



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS**

**Reprodução Induzida com o Extrato de Hipófise de Tilápia-do-  
Nilo em Piabanha (*Colossoma macropomum*) e Curimatã  
(*Prochilodus argenteus*)**

**NILDA LOIOLA DE ALMEIDA FRANCO SARMENTO**

**2012**

**NILDA LOIOLA DE ALMEIDA FRANCO E SARMENTO**

**Reprodução Induzida com o Extrato de  
Hipófise de Tilápia-do-Nilo, em Piabanha  
(*Colossoma macropomum*) e Curimatã  
(*Prochilodus argenteus*).**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção animal, para obtenção do título de “Mestre.”

**Prof. D.Sc. Felipe Shindy Aiura  
UNIMONTES  
(Orientador)**

**UNIMONTES-MG  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Setorial do Campus Avançado de Janaúba  
UNIMONTES

Sarmiento, Nilda Loiola de Almeida Franco e

S246c Reprodução Induzida com o Extrato de Hipófise de Tilápia-do-Nilo, em Piabanha (*Colossoma macropomum*) e Curimatã (*Prochilodus argenteus*). [manuscrito] Nilda Loiola de Almeida Franco e Sarmiento. -- 2012. 33 p.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, 2012.

Orientador: Prof. D.Sc. Felipe Shindy Aiura

1. Hipofisação. 2. Reprodução.

I. Aiura, Felipe Shindy. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD -

Catálogo: Biblioteca Setorial Campus de Janaúba

**NILDA LOIOLA DE ALMEIDA FRANCO E SARMENTO**

**Reprodução Induzida com o Extrato  
de Hipófise de Tilápia-do-Nilo, em Piabanha  
(*Colossoma macropomum*) e Curimatã  
(*Prochilodus argenteus*).**

Dissertação apresentada à Universidade  
Estadual de Montes Claros como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia, área de  
concentração em Produção animal, para  
obtenção do título de “*Mestre.*”

APROVADA em 14 de FEVEREIRO de 2012

Prof. DSc. Antônio Cleber da Silva Camargo – UFMG

Prof. DSc. Cláudio Luiz Corrêa Arouca – UNIMONTES

Prof<sup>a</sup> DSc. Mônica Patrícia Maciel – UNIMONTES

**Prof. D.Sc. Felipe Shindy Aiura  
UNIMONTES  
(Orientador)**

**JANAÚBA  
MINAS GERAIS - BRASIL**

*Deus Jeová, Cientista Soberano Universal; minha esperança, meu alento;  
Aos meus pais: Oraciano Inácio de Loiola (in memória), que chorou e  
sorriu com as minhas conquistas, e Crescentina Fernandes Loiola, meu  
espelho, a razão das minhas vitórias.*

**OFEREÇO**

*Aos meus amores  
Alex Sandro Franco de Almeida,  
Arthur Sarmiento de Almeida,  
Eduardo Sarmiento de Almeida e  
Bernardo Sarmiento de Almeida*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, Ser inexplicavelmente indescritível, por Quem me apaixono mais e mais cada vez que me dedico à ciência;

À Universidade Estadual de Montes Claros e o Departamento de Ciências Agrárias, pela oportunidade do conhecimento científico;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Centro Integrado de Recursos Pesqueiros do Gorutuba (CIRPA) de Nova Porteirinha-MG pela parceria e confiança;

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico (FADETEC), por apoiarem o projeto.

Ao Professor Felipe Shindy Aiura, pela constante presença e por dividir o seu conhecimento, com paciência e conselhos preciosos;

Ao Alex Sandro Franco de Almeida, provedor dos meus sonhos e das minhas alegrias;

Ao Arthur, Eduardo e Bernardo, que são o meu norte e o meu sul, meu leste e o meu oeste, minha semana de trabalho e meu Sábado de descanso; meu meio-dia e a minha meia-noite, minha conversa, e a minha canção;

Ao Orácio (*in memória*) e Tina, meus pais que, com suas orações, me cobriram com a armadura de Deus e me fizeram chegar até aqui.

Aos meus doze irmãos: sorrisos, abraços, amor. Nunca me deixaram, só mesmo estando distante (Niltinho, seu carinho é bálsamo);

A Zilma Silva Souza, grande colaboradora, por sua dedicação aos meus filhos e a minha casa, enquanto a pesquisa era o meu labor.

Aos colegas e amigos Anunciene, Érico, Rosiane e Antônio  
Tessitore, por somarem suas forças na execução desse trabalho.

## **BIOGRAFIA**

Nilda Loiola de Almeida Franco e Sarmiento, filha de Oraciano Inácio de Loiola e Crescentina Fernandes Loiola, nasceu em Salinas–MG, em 31 de agosto de 1972.

Em 1992 concluiu o curso de Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Salinas–MG.

Em janeiro de 2007 graduou-se em Zootecnia pela Universidade Estadual de Montes–MG.

Em agosto de 2007 iniciou o curso de Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido pela Universidade Estadual de Montes, campus Janaúba–MG, com área de concentração em Produção Vegetal.

Em março de 2010 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Estadual de Montes, campus Janaúba–MG, com área de concentração em Produção Animal.

Em março de 2011 iniciou o curso de doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Minas Gerais.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
2.1 Ciclo Reprodutivo de Peixes em ambiente natural.....	3
2.2 O Curimatã.....	6
2.3 A Piabanha.....	8
2.4 A glândula Hipófise ou Pitutária.....	9
2.5 A Técnica da Hipofisação	10
2.6 Técnicas Alternativas Utilizadas na reprodução.....	12
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
3.1 Obtenção da Hipófise	15
3.2 Experimento 1.....	17
3.3 Experimento 2.....	21
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>6 REFERÊNCIA BIBIOGRÁFICA</b>	<b>32</b>

## RESUMO

SARMENTO, Nilda Loiola de Almeida Franco. Reprodução Induzida com o Extrato de Hipófise de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), em Piabanha (*Colossoma macropomum*) e Curimatã (*Prochilodus argenteus*).2012, 32p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros-Janaúba –MG - Brasil<sup>1</sup>

O trabalho foi realizado na Estação de Piscicultura da Companhia Energética de Minas, no município de Machado Mineiro-MG e no Centro Integrado de Recursos Pesqueiros do Grotuba de Nova Porteirinha-MG,. O objetivo foi estudar a utilização da hipófise de machos de tilápia-do-Nilo na indução hormonal em curimatã (*Prochilodus argenteus*), e Piabanha (*Colossoma macropomum*). Para a extração da hipófise foram selecionados 24 exemplares machos de tilápia-do-Nilo, com idade de 6 a 8 meses. Para a hipofiseação foram utilizados curimatã pesando em média  $500 \pm 140$  g e 14 machos, pesando em média  $790 \pm 240$  g e 16 matrizes Piabanha ( $280 \pm 40$  g), receberam extrato pituitário de tilápia-do-Nilo, em duas aplicações, sendo a primeira de 0,5 mg.Kg-1, (dose preparatória) e, após intervalo de 12 horas, a segunda dose de 5,0 mg.Kg-1 (dose decisiva). Os machos receberam uma única dosagem de extrato de hipófise comercial de 2,5 mg.Kg-1 de peso vivo, no momento da 2ª dose nas fêmeas. O processo de indução hormonal foi realizado 24 horas após a captura e seleção. Observou-se que todas as fêmeas que receberam extrato de hipófise de tilápia não possibilitaram a extrusão dos gametas, entretanto todas as fêmeas que receberam o extrato comercial permitiram a extrusão, produzindo em média  $81,92 \pm 40,19$  g de ovócitos. Todos os machos produziram gametas também após massagem ventral. Nas condições em que foi realizado esse experimento, tanto o curimatã quanto a piabanha, tratados com o extrato bruto de hipófise de tilápia-do-Nilo, não promoveram a extrusão dos ovócitos.

---

<sup>1</sup> Comitê de Orientação; Prof. Felipe Shindy Aiura (Orientador)

## ABSTRACT

SARMENTO, Nilda Franco Loiola de Almeida. **Reproduction with the extract-Induced Pituitary of Tilapia-the-Nile in Piabanha (*Colossoma macropomum*) and Curimatã (*Prochilodus argenteus*).** 2012, 32p. Dissertation (Master's degree in Animal Science) - University of Montes Claros MG - Janaúba – Brazil<sup>1</sup>

The objective was to study the use of the pituitary of male tilapia, the Nile in the hormonal induction in curimatã (*Prochilodus argenteus*), and piabanha (*Colossoma macropomum*). For extraction of the pituitary were selected 24 specimens of male tilapia, Nile. For hypophysation were used curimatã weighing on average  $500 \pm 140$  g and 14 male, weighing on average  $790 \pm 240$  g and 16 matrices piabanha ( $280 \pm 40$  g), which received pituitary extract of tilapia, Nile, and two applications being first of 0.5 mg / kg, (priming dose) and, after interval 12 hours, the second dose of 5.0 mg / kg (dose decisive). Males received a single dosage of hypophysis extract commercial 2.5 mg / kg liveweight, at the time of 2nd dose in females. The process of hormonal induction was performed 24 hours after capture and selection. It was observed that all females who received hypophysis extract tilapia did not allow the extrusion of gametes, however all females who received the commercial extract allowed the extrusion, producing on average  $81.92 \pm 40.19$  g of oocytes. All the male gametes produced also after ventral massage. In the conditions of this experiment was conducted, both as curimatã piabanha. treated with the crude pituitary tiápia-the-Nile, did not promote the extrusion of the oocytes.

---

**Guidance committee**, Prof. Felipe Shindy Aiura (Adviser)  
(UNIMONTES)

## **1 INTRODUÇÃO**

Devido à crescente demanda por alimento, se fez necessário e mesmo imperativo que se encontrasse alternativas para formas de cultivo de peixes que complementassem a produção natural e que tivessem capacidade de saciar a demanda mundial de pescado, buscando também a sustentabilidade econômica e ambiental. Neste caso, foi necessário desenvolver tecnologias para produção em grande escala de peixes cultivados em águas interiores e marítimas. Assim, no mundo todo, um grande número de espécies de água doce e salgada são cultivadas em diferentes sistemas de produção e níveis tecnológicos.

A produção de peixes através da aquicultura tem aumentado rapidamente nos últimos anos. Um importante fator deste crescimento tem sido a aplicação da biotecnologia no controle da reprodução e essa importância, cada vez maior, que vem sendo atribuída à criação de peixes, torna imperativo que os criadores aprimorem-se nas técnicas necessárias para reprodução, de forma a assegurar o êxito básico e inicial da criação, como a produção de alevinos.

As técnicas de propagação artificial possibilitam o suprimento de ovos para uma grande variedade de peixes

destinados à criação em viveiros e outros corpos de água confinados, bem como para sistemas superintensivos. Essas técnicas tornam igualmente possível introduzir várias espécies importantes em áreas geográficas separadas.

Entre as principais técnicas de reprodução artificial, se destaca, de modo geral, a indução reprodutiva de peixes que habitam águas correntes (reofílicos), grupo onde se enquadram os peixes que realizam migração reprodutiva (piracema). Pelo fato dos sistemas aquaculturais apresentarem ambientes lênticos, esses animais deixam de receber certos estímulos externos, fazendo com que não haja uma resposta endócrina apropriada para a indução da maturação gonadal final e, dessa forma, os ovários se desenvolvem apenas parcialmente.

Por outro lado, a reprodução pode ser obtida fazendo-se uma simulação da resposta endócrina natural através da manipulação ambiental ou aplicação de substâncias análogas aos estímulos hormonais intrínsecos. O agente indutor com melhor definição tecnológica e mais utilizado é o extrato bruto de hipófises, desidratadas em acetona e conservadas a seco, maceradas em um graal de porcelana com adição de algumas gotas de glicerina, e a pasta diluída em solução fisiológica (ZANIBONI-FILHO, 1995).

Atualmente, para a reprodução induzida de peixes em cativeiro, a maioria dos piscicultores utiliza a hipófise desidratada comercial, no entanto, o seu custo é bastante elevado, o que torna necessário a realização de pesquisas que promovam a utilização de hipófises de outras espécies.

Objetiva-se com este trabalho, obter informações sobre reprodução induzida, com o extrato de hipófise de tilápia-do-Nilo, em piabanha e curimatã.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Ciclo reprodutivo de peixes no ambiente natural**

As estratégias utilizadas pelas diferentes espécies nos ciclos de vida resultam da seleção natural para produzir o número máximo de jovens capazes de sobreviver para maturar, sob as condições impostas pelos seus biótipos (LOWE-MCCONNEL, 1999). A maioria dos peixes tropicais desova várias vezes na vida, sendo este um processo que ocorre em intervalos que se repetem. Entre as espécies, os ovócitos podem maturar todos de uma única vez e serem liberados em um período do ano, sendo, portanto, produzidos em um único lote, ou os ovócitos podem maturarem lotes distintos, sendo eliminados em intervalos durante a estação reprodutiva, ou sem sazonalidade definida (GOULDING, 1980).

As espécies pertencentes ao primeiro grupo, de acordo com Vazzoler (1996), são denominadas “desovadoras totais”, enquanto as do segundo são “desovadoras múltiplas”. As desovadoras múltiplas apresentam estações de reprodução menos definidas e realizam apenas deslocamentos locais para áreas de reprodução. Os desovadores de pequenas ninhadas geralmente estabelecem um território, e fazem ninhos onde desovam e guardam os ovos, apresentando um comportamento complexo no

ritual de acasalamento para garantir a sincronização da desova, enquanto os desovadores totais podem manter-se juntos e serem estimulados por fatores externos, como, por exemplo, as enchentes (LOWE-MCCONNEL, 1999).

Com base nas alterações morfo-funcionais das gônadas, de acordo com Bazzoli (2003), o ciclo reprodutivo dos peixes pode ser dividido nos seguintes estádios:

1. Repouso: neste estádio, as gônadas estão com o menor tamanho registrado no ciclo, são delgadas e translúcidas; o repouso ocorre nos meses mais frios e secos do ano;
2. Em maturação: aqui as gônadas iniciam o processo de gametogênese e acumulam gradualmente seus produtos, fazendo aumentar seu peso.
3. Maturação avançada/maduro: neste estádio, as papilas genitais apresentam-se avermelhadas e o ventre, especialmente das fêmeas, abaulado; as gônadas atingem seu maior peso e volume; os machos podem liberar sêmen quando sua parede celômica é pressionada; o estádio maduro é alcançado nos meses de verão.
4. Esgotado: corresponde ao período que se segue à reprodução; em consequência da eliminação dos gametas, as gônadas estão reduzidas em tamanho, flácidas e sanguinolentas; ocorre intensa reorganização das gônadas que, em breve, estarão em repouso.

A Estratégia de realizar migrações entre os locais de alimentação e desova são bastante comuns em desovadores totais brasileiros (RIBEIRO, 1983; ZANIBONI-FILHO, 1995). Esta estratégia permite que algumas espécies de peixes maximizem o aproveitamento do ecossistema, buscando os melhores locais para cada uma das etapas do ciclo de vida. A elevação do nível da água pode ser necessária para permitir a realização do deslocamento migratório, uma vez que obstáculos, como as cachoeiras, deixam de existir, ou para permitir que os ovos e larvas liberados no rio principal sejam carregados, juntamente com a água, para as recém inundadas lagoas marginais (ZANIBONI-FILHO, 2007), ou mesmo para permitir o acesso dos reprodutores às lagoas marginais para a desova (LOWE-MCCONNEL, 1999).

## **2.2 O Curimatã**

Nos últimos anos tem-se observado uma intensificação do estudo da ictiofauna brasileira que revelou várias espécies promissoras para criação em pisciculturas. Entre as espécies de peixe de interesse econômico-social, destaca-se o curimatã *Prochilodus argenteus*, pertencente à família *Prochilodontidae*. (BOMFIM *et al.*, 2005). São peixes de grande importância na pesca de rios brasileiros (GALDIOLI *et al.*, 2000).

O curimatã é amplamente distribuído pela América Latina. Esses peixes têm o hábito alimentar limnófago ou iliófago (detritívoro), de baixo nível trófico, alimentando-se no ambiente natural de material orgânico particulado (MOP), depositado no fundo ou na vegetação submergida, que, muitas vezes, é misturado com partículas minerais de baixo valor nutritivo. O MOP é constituído de vegetais mortos, ricos em lignina e celulose, além de pequenas quantidades de micro invertebrados vivos (algas, fungos e bactérias) (BOISCHIO, 1992).

O curimatã, entre os peixes nativos, é um dos que têm apresentado bom desempenho para a piscicultura, em virtude do rápido crescimento em cultivo intensivo, da alta rusticidade para manejo e da alta fertilidade, estando entre as espécies de maior valor econômico aceitas para consumo humano no mercado nacional (GALDIOLI *et al.*, 2000; GALDIOLI *et al.*, 2002). No entanto, tem sido uma das espécies mais afetadas pela poluição dos rios e pelas construções de represas hidroelétricas, com interferência no seu comportamento reprodutivo e, conseqüentemente, redução dos estoques pesqueiros (BARBOSA, 1987).

A reprodução dessa espécie é sazonal, estando geralmente sincronizada com fatores ambientais que se adequam às necessidades metabólicas dos reprodutores, de tal forma que

incremente a viabilidade dos gametas e favoreçam o desenvolvimento inicial da prole (VAZZOLER, 1996). A realização da migração em massa, rio acima, ocorre na época de reprodução, de novembro a janeiro. O deslocamento de centenas de quilômetros afeta toda a fisiologia desses peixes, desencadeando processos essenciais para o preparo da reprodução. Nos viveiros de piscicultura, a privação desse comportamento migratório impede que esses peixes atinjam o preparo fisiológico para a reprodução. Com isso, faz-se necessária a indução hormonal da reprodução (MURGAS *et al.*, 2003).

### **2.3 A Piabanha**

A piabanha (*Brycon insignis*) é uma espécie nativa do Rio Paraíba do Sul (FOWLER, 1950), no Estado de São Paulo. Segundo Machado e Abreu (1952), foi considerada a 4ª espécie de peixe mais capturada pela pesca comercial na década de 50, atingindo elevado valor no mercado consumidor da região. Segundo os mesmos autores, o Rio Paraíba do Sul constituía-se em um dos mais piscosos do estado, porém a maioria das espécies era considerada de qualidade inferior, com exceção de piabanha, piavas e surubim-do-paraíba.

Em virtude das escassas informações sobre o comportamento biológico da piabanha em seu hábitat natural, para que os programas de repovoamento tenham sucesso, é necessário o aprimoramento das técnicas de indução da reprodução, identificando o momento propício para a utilização de hormônios indutores e definindo a dosagem de hormônio e o período de latência para obtenção de maior número de larvas e alevinos de boa qualidade.

#### **2.4 A glândula hipófise ou pituitária**

A hipófise, também chamada de glândula “mestra” do organismo, é um órgão pequeno, tendo no peixe o volume de um pequeno grão e pesando por volta de 0,1 g. Situa-se no interior da caixa craniana, numa depressão óssea chamada sela túrcica. Ela coordena o funcionamento das demais glândulas, porém, não é independente e obedece a estímulos do hipotálamo (KING e PANKHURST, 2004).

A hipófise é formada de três partes: a hipófise anterior ou adeno-hipófise, hipófise intermediária e hipófise posterior. A atividade das células hipofisárias e a emissão de seus hormônios no sangue estão sob o controle de centros nervosos situados na

base do cérebro, na região denominada hipotálamo (ZOHAR, 2001).

As relações entre as duas estruturas se faz por intermédio de substâncias químicas: os fatores de liberação, ou “releasing factors”, secretados por alongamentos de células especializadas do hipotálamo (KING e PANKHURST, 2004).

## **2.5 A Técnica da Hipofisação**

As técnicas de reprodução artificial de peixes são múltiplas e, segundo Woynarovich e Horbáth (1989), a hipofisação com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) é seguramente o método mais utilizado na indução artificial da reprodução de espécies de caráter reofílico. Existem vários tipos de substâncias utilizadas para induzir a reprodução em peixes, que conforme suas estruturas químicas agem segundo princípios diferentes. Além disso, a dose necessária de uma mesma substância varia de espécie para espécie (BALDISSEROTTO, 2002).

A hipofisação consiste na administração de extrato hipofisário de peixe, geralmente de carpa comum (*Cyprinus carpio*), injetado na cavidade celomática ou via intramuscular nos reprodutores, em duas aplicações. (ZANIBONI-FILHO, 1995).

Os elevados preços das hipófises comerciais, nos mercados nacional e internacional, estimularam a realização de trabalhos com a hipófise de outros animais, obtendo-se resultados poucos satisfatórios na indução à desova de peixes com hipófises de diversos animais tais como frango, pato, coelho e rã (NWADUKWE, 1993; STREIT JR., 2002).

Souza *et al.*, 2003, relata que pode-se indicar o extrato de hipófise de frango para induzir machos de *Cyprinus carpio*, pois as variáveis testadas e comparadas com os resultados apresentados pelo extrato bruto de carpa, evidenciaram a ação positiva.

O tempo entre as aplicações do extrato de hipófise e a dosagem hormonal distribuída entre as doses vem sendo bastante estudado, uma vez que tais variáveis podem mudar de acordo com a exigência de cada espécie.

Nas fêmeas, geralmente, emprega-se a administração de duas doses do hormônio com intervalo aproximado de 12 a 13 horas entre as aplicações, com a água em uma temperatura entre 26 a 27°C. A primeira dose serve para estimular a migração da vesícula germinal, e a segunda, para induzir a quebra dessa vesícula, ovulação e desova (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983). Já para os machos, é utilizada a administração de dose hormonal única, aplicada no mesmo momento da segunda dose das

fêmeas. Seguindo esse protocolo, os reprodutores da espécie de curimatã, deverão estar aptos à extrusão dos gametas em aproximadamente 226 horas-grau ou 9,3 horas (SATO, 2003). O termo “horas-grau” refere-se ao tempo (horas) multiplicado pela temperatura da água (C°), sendo que cada espécie de peixe apresenta necessidades diferentes para essa medida.

O total de ovócitos extruídos deverá representar cerca de 5% do peso corporal das fêmeas (SATO *et al.*, 2003). Os valores de percentagem de ovócitos extruídos por fêmea, assim como a fertilização e a fecundidade dos mesmos, podem ser variáveis de acordo com a classe de peso estudada.

## **2.6 Técnicas alternativas utilizadas na reprodução**

Diversos autores têm proposto a substituição da hipofiseção por outras técnicas (GOOS *et al.*, 1987).

Dentre as várias possibilidades, utiliza-se gonadotropina parcial ou totalmente purificada de peixes. A gonadotropina semipurificada de salmão chegou a ser produzida comercialmente, sendo um produto padronizado por meio de bioensaio e que permitia um longo período de estocagem; apesar disso, o preço elevado limitou o seu uso no setor produtivo (HARVEY e CAROLSFELD, 1993).

A gonadotropina purificada de origem humana (HCG) também foi testada em surubim, mostrando-se um potente indutor da ovulação, apesar de não estimular todas as espécies de peixes. A grande diferença na estrutura molecular da HCG, comparada com a gonadotropina de peixes, exige a aplicação de elevadas doses para estimular a maturação final de peixes, tornando o processo economicamente inviável (HARVEY e CAROLSFELD, 1993). Leonardo (2003) comparou o extrato de hipófise de carpa (EBHC), HCG e o conjugado entre as duas substâncias, na indução hormonal de cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), verificando que o HCG foi mais eficaz em relação ao EBHC na indução à desova e que a combinação de EBHC conjugado com o HCG não foi adequada a esse peixe.

Três grandes vantagens dos hormônios liberadores de gonadotropina são verificadas na indução à maturação final e à desova dos peixes. A primeira é que atuam no início da cadeia hormonal e estimulam o peixe a sintetizar a sua própria gonadotropina, eliminando, assim, os problemas relacionados à utilização de gonadotropina de outras espécies. A segunda é que a molécula não é altamente espécie-específica. Por último, são estruturas simples e facilmente fabricadas, apresentam grande estabilidade estrutural, são efetivas com pequenas dosagens de

aplicação e o seu uso é economicamente vantajoso (HARVEY e CAROLSFELD, 1993).

No caso da utilização desses hormônios em fêmeas de surubim, a grande desvantagem seria o tempo prolongado para ovulação, como observado por Brzuska (2001) em siluriformes. Devido a tais inconvenientes, produtores e pesquisadores têm sido relutantes na aplicação dos análogos.

É importante salientar que, seja qual for o protocolo utilizado na indução artificial à desova, a determinação do melhor momento para se iniciar o procedimento é fundamental para o sucesso reprodutivo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

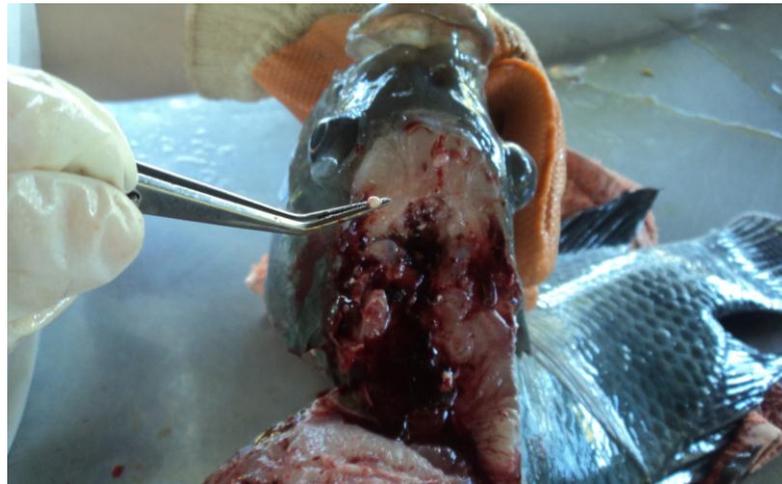
#### **3.1 Obtenção da Hipófise**

Para a obtenção das hipófises, foram utilizados 48 exemplares machos de tilápia-do-Nilo, do Centro Integrado de Recursos Pesqueiros do Gorutuba (CIRPA) de Nova Porteirinha-MG, coletados de um viveiro, o qual continha fêmeas e machos em processo de reprodução.

Para a extração das hipófises, as tilápias foram previamente insensibilizadas por meio de secção de medula, realizada com uso de uma haste metálica cilíndrica afiada, a qual foi introduzida na base do crânio do peixe na posição de 90°, até atingir a medula realizando-se imediatamente a secção da mesma. Em seguida, foi realizado um corte de modo a retirar a seção triangular do occipital, expondo o cérebro do animal e a cela túrcica do esféróide dentro da qual se encontra a hipófise. Com o auxílio de um algodão, foi removido o excesso de tecido adiposo, e a glândula hipofisária foi retirada com uma pinça metálica (Figura 1) e colocada em acetona pura, a qual foi substituída a cada 8 horas.

Após 24 horas em acetona, a glândula foi escoada, colocada em papel de filtro e armazenada em dessecador. Após esse processo de secagem, a glândula foi colocada em frasco de vidro,

pressionada com chumaço de algodão, tampada firmemente e guardada em local seco e escuro para serem usadas nos processos de reprodução.



**Figura 1:** Retirada da Hipófise

Momentos antes da aplicação, a hipófise foi retirada do frasco de vidro, pesada e macerada em graal, juntamente com uma gotícula de glicerina (Figura 2). Em seguida foi adicionado soro fisiológico, para o preparo do extrato bruto de tilápia-do Nilo.



**Figura 2:** Maceração da hipófise

### **3.2 Experimento de reprodução 1**

Foram utilizados exemplares de curimatã (*Prochilodus argenteus*), da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura do Centro Integrado de Recursos Pesqueiros do Gorutuba (CIRPA) de Nova Porteirinha, MG.

Os animais foram capturados em viveiros de reprodutores. Doze fêmeas foram selecionados manualmente, por observação do poro urogenital entumecido e avermelhado, abdômen volumoso e macio, pesando em média  $500 \pm 140\text{g}$  e 14 machos, apresentando liberação de sêmen após leve pressão ventral, pesando em média  $790 \pm 240\text{g}$ . Os reprodutores selecionados foram marcados por

fritilhos coloridos, (Figura 3) separados por sexo e mantidos em tanque de alvenaria de 10 m<sup>3</sup>, com renovação constante de água.



**Figura 3:** Marcação dos animais

Após 24 horas da captura e seleção, sete fêmeas foram capturadas aleatoriamente para receberem o extrato de hipófise de tilápia-do-Nilo, sendo então aplicada à primeira dose de 0,6 mg/kg/peso vivo (preparatória), e após 14 horas a segunda dose de 6,3 mg/kg/peso vivo, sendo aplicadas na cavidade celomática (Figura 4).

Nas cinco fêmeas restantes, foi realizado o mesmo procedimento no mesmo momento, entretanto estas receberam o extrato de hipófise comercial de carpa, sendo, 0,5 e 5 mg/kg de peso vivo, para a 1ª e 2ª dose, respectivamente. Os machos receberam uma única dosagem de extrato de hipófise comercial de 2,5 mg/kg de peso vivo, no momento da 2ª dose nas fêmeas.



**Figura 4:** Indução Hormonal

Realizou-se o monitoramento da temperatura, Oxigênio dissolvido, registrou-se ainda a temperatura da água para

determinação do número de horas-grau e o momento de extrusão dos gametas.

Os gametas foram coletados segundo Woynarovich e Horváth (1983), de forma que a região uro-genital e a nadadeira anal foram secado com papel toalha e realizado a extrusão, comprimindo-se a região abdominal do animal no sentido céfalo-caudal. Os ovócitos foram coletados em bacias plásticas devidamente identificadas (Figura 5).



**Figura 5:** Extrusão do Curimatã

A fertilização foi realizada “a seco”, segundo Von Ihering e Azevedo (1934), com cerca de 1,0 ml de sêmen. Para a estimativa

do número total de óvulos liberados, efetuou-se a contagem do número de células contidas em 1 grama de óvulo.

Após a obtenção das desovas, essas foram pesadas para o cálculo do índice de desova ( $ID = \text{peso da ova} \times 100 / \text{peso corporal da fêmea}$ ): este índice indica o rendimento da desova (em percentagem) em relação ao peso corporal e avalia, a eficiência do tratamento hormonal e da extrusão.

### **3.3 Experimento 2**

O segundo estudo experimental foi realizado na Estação de Piscicultura Ambiental da Companhia Energética de Minas Gerais, no município de Machado Mineiro-MG (EPAMM).

Os animais foram capturados dos e selecionados manualmente 16 matrizes de piabanha (*Brycon insignes*) 16 matrizes de curimatã (*Prochilodus argenteus*) por observação, segundo os critérios citados no experimento 1. Os reprodutores selecionados foram levados ao laboratório de reprodução, pesados, marcados por filhinhos coloridos (Figura 3) e estocados em tanques de alvenaria com 2,4m<sup>3</sup> de volume, revestidos por cerâmica, com água corrente, cuja vazão média foi de 48 l/min, onde as fêmeas foram mantidas em tanques separadas dos machos.

Quarenta e oito horas após a captura, foi iniciado o processo de indução hormonal quando 16 matrizes de piabanha e

as 16 matrizes de curimatã, receberam extrato pituitário de tilápia-do-Nilo, em três aplicações, sendo a primeira de 0,5 mg/kg, (dose preparatória) e, após intervalo de 12 horas, a segunda de 0,5 mg/kg (dose intermediária) e após 6 horas a terceira de 5, mg/kg (dose decisiva), injetado na região lombar (Figura 4). Os machos receberam uma única dosagem de 1,5 mg do extrato de hipófise comercial por quilograma de peso, logo após a terceira dose das fêmeas.

Semelhante ao experimento 1, foi realizado o monitoramento da temperatura e Oxigênio dissolvido. Registrou-se a temperatura da água para determinação do número de horas-grau e o momento de extrusão dos gametas.

Após aproximadamente 210 horas-grau da última aplicação do extrato, realizou-se a tentativa de extrusão dos gametas, quando as matrizes foram submetidas a compressão no abdômen, segundo a metodologia de Woynarovich e Horváth (1983).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de peso da desova, e o índice da desova das fêmeas de curimatã submetidas à indução hormonal como extrato bruto de carpa (EBHC) estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de peso da fêmea, peso dos ovócitos, número de ovócitos e índice da desova das fêmeas de curimatã tratadas com EBHC

Fêmea (kg)	Ovócitos (g)	Nº ovócitos/g	ID(%)
0,420	72,20	1.487,50	17,19
0,300	54,60	1.680,00	18,20
0,600	127,20	2.387,00	21,20
0,300	56,10	1.692,00	18,70
0,740	119,50	1.176,00	16,15
1,360	207,30	1.225,00	15,24

A extrusão dos ovócitos foi realizada a 210 horas-grau após a aplicação da segunda dose do EBHC (5,0 mg/kg) estando a temperatura da água a 24°C. Os resultados obtidos neste trabalho diferem com aqueles apresentados por Sato (1999) para *Prochilodus marggravii* e *Prochilodus argenteus*, onde a hora-grau média obtida com o uso de duas doses foi de 224 H°, a uma temperatura de 25-26°C, mas conferem com os resultados

apresentados por Sato et al., 1996, quando os autores aplicaram duas doses e encontraram uma faixa de hora-grau que variou de 210 a 250 H° em temperatura variando entre 23 a 25°C.

No experimento 1, todas as fêmeas submetidas à indução hormonal com o extrato bruto de carpa, responderam positivamente a hipofisação. Pereira et al., 2009, obtiveram desova em todas as fêmeas, em trabalho utilizando as mesmas dosagem do EBHC; Chen (2005) obteve 100% de desova em fêmeas tratadas com 6 mg/kg de extrato bruto de hipófise de carpa em *Takifugu ocellatus*. Isso comprova a eficiência do EBHC na indução da desova em peixes, por apresentar várias substâncias capazes de estimular todo o processo endócrino para a reprodução induzida.

Neste estudo, não se pode afirmar que o momento da extrusão dos gametas nos animais que receberam o extrato de hipófise de tilápia, aconteceu em um momento ideal, devido a dificuldade de estipular a hora grau para a desova de peixes cuja atuação do extrato aplicado na indução seja desconhecida, uma vez que os peixes não apresentaram comportamento diferenciado daqueles que receberam o EBHC.

O uso da hora-grau ou em trabalhos de reprodução artificial tem função primordial, uma vez que permite estimar com certa precisão o período que ocorrerá a ovulação da espécie induzida (LEE E YANG, 2002). Dessa forma, pode ser evitada a

manipulação precoce do peixe para a extrusão, que pode prejudicar a evolução dos ovócitos, resultando na ovulação parcial ou regressão dos óvulos (BALDISSEROTTO, 2002; ZOHAR E MYLONAS, 2001).

Por outro lado, também se deve evitar passar muito tempo para efetuar a extrusão, pois os ovócitos podem se tornar sobremaduros e afetar sua taxa de fertilização (YARON, 1995). Ambos os casos podem prejudicar o processo de indução. Além disso, em casos extremos, cujo desenvolvimento final da maturação gonadal tenha sido prejudicado, o peixe pode não ovular, e até morrer, caso os óvulos que avançaram sua maturação não possam ser expelidos e serem reabsorvidos no interior das gônadas (WOYNAROVICH E HORVÁTH, 1989) ou ainda se os ovócitos passarem da hora da extrusão a qualidade dos produtos.

Os resultados para peso da desova alcançaram uma média de 187,05g. Estes resultado encontram-se abaixo daqueles reportados por Pereira *et al.*, (2009), trabalhando com curimatã (*Prochilodus lineatus*), alcançaram uma média de peso de ova de 221g utilizando 0,5 mg/kg e 5,0 mg/kg de extrato bruto de carpa e de 213g quando utilizou 0,5 mg/kg de extrato bruto de carpa e 5,0 mg/kg de extrato bruto de carpa juntamente 500 UI/kg de gonadotropina coriônica eqüina.

O índice de desova (peso da ova x 100/peso corporal da fêmea) é o método que indica o rendimento da desova, em percentagem, em relação ao peso corporal; ele avalia, menos drasticamente a eficiência do tratamento hormonal e da extrusão (GODINHO, 2007)

No presente trabalho, os valores para este parâmetro ficaram entre 15,24 e 21,20% (tabela 1) e se encontram dentro da faixa apresentada por Sato *et al.*, (2003), cujos valores variaram de 14 a 26,2% para *Prochilodus Sp.*

Quanto ao número de ovócitos, as fêmeas apresentaram produziram, a partir do *pool* de ovócitos, uma média de 2.353 ovócitos/g de ovócitos. Todavia, além dos processos hormonais, estes dados podem ser influenciados pela idade das matrizes, a nutrição, a época do ano e o grau de repleção do estômago (BOMBARDELLI, 2006).

Observou-se que, as fêmeas de piabanha, bem como as fêmeas de curimatã, as quais foram tratadas com o extrato bruto de hipófise de tilápia, em ambos os estudos, não responderam à indução hormonal, pois não permitiram realização da extrusão dos gametas.

Em pirapitinga-do-sul (*Brycon opalinus*), duas doses de EPS (extrato de pituitária de salmão) nas concentrações de 5 e 10

mg/kg, aplicadas com intervalo de 12 horas, permitiram a indução reprodutiva em 50% das fêmeas.

Narahara *et al.*, (2002), testando um método de indução da reprodução em pirapitinga, utilizaram uma dosagem de 5 e 10 mg/kg de extrato bruto de hipófise de salmão, e apenas 48% das fêmeas desovaram. Szabo *et al.*, (2002) obtiveram 66,6% de fêmeas desovadas, utilizando 3 e 6 mg/kg de extrato bruto de hipófise de carpa na indução da ovulação de *Chondrostoma nasus*.

Estes resultados demonstram que há grande variação na resposta à dose hormonal aplicada nas diferentes espécies de peixes devido ao fato de não haver padronização quanto à quantidade de gonadotropinas na composição da hipófise. Por isso, várias pesquisas têm sido conduzidas com o intuito de testar substâncias alternativas para utilização nas técnicas de reprodução induzida em peixes.

Não foram encontrados na literatura científica relatos sobre o uso do extrato bruto de tilápias na indução da reprodução de peixes.

As tilápias apresentam precocidade reprodutiva, e grande prolificidade, portanto, indicativo de eficiência na produção dos hormônios gonadotrópicos. Entretanto, essa precocidade reprodutiva causa superpopulação, que, para ser controlada, exige aplicação de alguns métodos, como a masculinização por meio de

hormônios esteroides masculinizantes (POPMA E LOVSHIN, 1996) tanto na ração como em banhos de imersão (GALE *et al.*, 1999), para produção de população monosssexual.

A adição do hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona na ração é o método mais utilizado na reversão sexual de tilápias e pode produzir 98% de machos (MAINARDES-PINTO *et al.*, 2000) utilizando-se ração suplementada com metiltestosterona (60 mg/kg) por um período de 30 dias a partir do início da alimentação exógena das larvas.

Ressalta-se que os animais utilizados para obtenção das hipófises utilizadas nos dois estudos, passaram por esse processo de masculinização com o hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona na dosagem de 65 mg/ração, por um período de 30 dias, e, portanto sugere-se que tais animais podem ter a sua carga hormonal alterada.

Simone (1990), encontrou grande quantidade de tecido de sustentação e ausência de espermatogênese em testículos hipertrofiados de *channel catfish* alimentado com concentrações altas e baixas de 17- $\alpha$ -metiltestosterona na dieta. Em salmonídeos, McBride e Fagerlund (1976), demonstraram que o hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona na dieta resultou em maior atividade e desenvolvimento testicular, já estudos apresentados por Gannam e Lovell (1991) resultou em maior desenvolvimento dos túbulos

seminíferos e espermatogênese, mas em alguns casos, os testículos apresentavam massas de tecido conjuntivo edemaciado e eram desprovidos de células germinativas discerníveis.

De acordo com Billard e Richard (1982), o tratamento com 50 mg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona (dosagem inferior aquela utilizada pelos animais deste trabalho), na dieta de truta arco íris madura, resultou em severa redução da espermatogênese e vitelogênese.

Análise histológica de gônadas realizadas por Nakamura (1975) em *Tilápia mossambica* revelaram que altas doses do hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona, resultou em altas taxas de peixes intersexos. Estes peixes apresentavam gônadas contendo tecidos testiculares tubulares e tecido ovariano com a cavidade ovariana localizada atípicamente nos ductos eferentes expandidos.

Baseado nos estudos da literatura, sugere-se que a produção de hormônios sexuais de animais tratados com 17- $\alpha$ -metiltestosterona, podem acontecer de forma anormal e desordenada e que, em função disso, neste trabalho, não demonstraram atuação suficiente para promover a extrusão dos ovócitos.

Faz se necessário ressaltar ainda, a complexidade das inter-relações endócrinas e metabólicas associadas ao processo reprodutivo dos peixes, o que torna difícil determinar o melhor

momento para a captura desses animais e a realização da extração da hipófise contendo grandes quantidades de hormônios, sendo o mais importante desses hormônios, a gonadotrofina (GnRH), que viajam a partir do hipotálamo para a glândula pituitária (BOMBARDELLI *et al.*, 2006).

Esse fenômeno ocorre quando o hipotálamo, localizado na base do cérebro, se sensibiliza aos sinais de receptores sensoriais e libera hormônios em resposta a estímulos ambientais, que, no caso da tilápia, é retratado especialmente pela elevação da temperatura (ZANIBONI FILHO, 2007). Neste ponto, a hipófise se encontra repleta de GnRH e talvez esse seria o melhor momento para sua extração, uma vez que logo em seguida, a GnRH, vai para a corrente sanguínea e chega até as gônadas, onde é sintetizados esteróides responsáveis pela maturação final dos gametas. Tal processo esvazia a hipófise dos hormônios gonadotrópicos.

Neste trabalho, as tilápias-do Nilo, encontravam-se em idade reprodutiva, e tal fato, pode ter permitido o deslocamento do GnRH para as gônadas, tornando a hipófise desprovida dos hormônios reprodutivos, os quais poderiam promover a extrusão dos gametas.

## **5. CONCLUSÕES**

Nas condições em que foi realizado esse experimento, tanto o curimatã quanto a piabanha, tratados com o extrato bruto de hipófise de tiápia-do-Nilo, não promoveram a extrusão dos ovócitos.

## **6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA**

BALDISSEROTTO, B. Reprodução. In: **Fisiologia de peixes aplicado à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002. cap. 6, p. 109-138.

BARBOSA, N.D.C. Efeito do teor de proteína na ração e da adubação dos tanques de curimatá (*Prochilodus scrofa*, 1881). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1987. 52p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1987.

BAZZOLI, N. **Parâmetros reprodutivos de Peixes de Interesse Comercial do rio São Francisco, Região de Pirapora, MG**, p. 286-300.

BILLARD, R. e RICHARD, M. Inhibition of spermatogenesis and vitellogenesis in rainbow trout by hormonal additives in the diet. **Program Fish Culture.**, v. 44, p. 15 - 8, 1982.

BOICHIO, A.M.P. Produção pesqueira em Porto Velho, Rondônia (1984-89) alguns aspectos ecológicos das espécies comercialmente relevantes. **Acta Amazônica**, Manaus, v.22, p.163-172, 1992.

BOMBARDELLI, R. A.; SYPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Hormônios liberadores de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, UNIPAR, Umuarama, v. 9, p.59-65, 2006

BOMFIM, M.A.D.; *et al.* Proteína bruta e Energia digestível los Dietas parágrafo alevinos de curimatá. **Revista Brasileira de Zootecnia** , v.34, n.6, p.1795-1806, de 2005.

BRUZSKA, E. Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. **Aquaculture**, v.32, p.11-19, 2001.

CHEN Y.F.; Induced ovulation and embryonic development of ocellated puffer, *Takifugu ocellatus*. **Journal Applied Ichthyology**, v. 21, p.. 136-140. 2005.

FOWLER, H.W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivos de Zoologia**, v.6, p.333-340, 1950.

GALE, W. L., *et al.* Contreras. W. M. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 178, n. 3-4, p. 349-357, 1999.

GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Diferentes fontes protéicas na alimentação de alevinos de curimba (*Prochilodus lineatus* V.). **Acta Scientiarum**, v.22, n.2, p.471-477, 2000.

GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em rações para alevinos de curimatá (*Prochilodus lineatus* V.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.552-559, 2002.

GANNAM, A. L. e LOVELL, R. T. Effects of feeding 17 methytestosterone, 11 ketotestosterone, 17  $\beta$ -estradiol, and 3,5,3 triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 92, p. 377 - 88, 1991.

GODINHO, H. P.; Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.351-360, jul./set. 2007

GOULDING, M. The fishes and the forest. **Explorations in Amazonian Natural History**. University of California Press. Berkeley, USA. 280p. 1980.

GOOS HJTH, J.O.Y K.P, *et. al.*; The effect of luteinizing hormone - releasing hormone analogue (LHRHa) in combination with different drugs with anti-dopamine and anti-serotonin properties on gonadotropin release and ovulation in the african catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture**, v.63, p.143-156, 1987.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: International Development Research Center, 1993.

KUCHARCZYK D., SZABOÂ T.; OVOPEL: new hormonal substance for stimulating of reproduction in Cyprinidae. *In: Polish Conference of Breeders and Producers of Rheophilic Cyprinid Fish*, 1, 1998, Brwinów. Proceedings

KING, H. R.; PANKHURST, N. W. Effect or maintenance at elevated temperatures on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue responsiveness of female Atlantic

salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. **Aquaculture**, v.233, p. 583-597, 2004.

LOWE-MCCONNEL R.H., **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: EDUSP, 1999.

LEONARDO A.F.G. Indução à maturação final, ovulação e fertilização do cachara, *Pseudolatystoma fasciatum*, em cativeiro. 2003. 41p. **Dissertação** (Mestrado em Aqüicultura.) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal, 2003.

LEE, W. K.; YANG, S. W. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Laterolabrax maculatus* (Jeon-nong-eo). **Aquaculture**, v. 207, p. 169-183, 2002.

MACHADO, C.E.M., ABREU, E.C.F. Notas Preliminares sobre a caça e a pesca no Estado de São Paulo - I) A Pesca no Vale do Paraíba. **Boletim de Indústria Animal**, v.13, p.145-160, 1952.

MAINARDES PINTO, C. S. R. Estudo comparativo do crescimento em cultivos monossexo de *Oreochromis* (*Osteichthyes*, Ciclidae), São Paulo, 1985. 69 p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

McBRIDE, J. R., FAGERLUND, U. H. M. Sex steroids as growth promoters in the cultivation of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **World Mariculture Sociedade.**, v. 7, p. 145 - 61, 1976.

MURGAS, L.D.S.; FRANCISCATO, R.T.; SANTOS, A.G.O.  
Avaliação espermática pós-descongelamento em piracanjuba  
(*Brycon orbignyianus*, Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, p.1810-1814, 2003.

NAKAMURA, M. Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in Tilápia mossambica. **Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.** v. 26, p. 99 - 108, 1975.

NARAHARA, M. Y.; *et al.* Reprodução induzida da pirapitinga-do-sul, *Brycon opalinus* (Curvier, 1819), mantida em condições de confinamento. **Revista Brasileira Zootecnia.**, v. 31, n. 3, pp. 1070-1075, 2002.

NWADUKWE, F.O. Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Hetrobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Claridae), using frog pituitary extract. **Aquacult Fish Man**, v.24, p.625-630, 1993.

PEREIRA, G. J.M.; *et al.* Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando eCG E EBHC. **Revista Ceres**, V.56(2): p. 156-160, 2009.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. **Wordwide Prospects for Commercial Production Of Tilápia**, Internacional Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Auburn: Auburn

University, Alabama. Research And Development. Series n. 41, 1996. 23 p.

RIBEIRO M.C.L.B. As migrações dos jaraquis (Pisces, Prochilodontidae) no Rio Negro, Amazonas, Brasil. 1983. 192f. **Dissertação (Mestrado)** - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1983.

SATO Y, *et al.* Reprodução induzida de peixes da Bacia do São Francisco. *In:* Godinho HP, Godinho AL (Org.). **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, p.274-290, 2003.

SIMONE, D. A. The effect of the synthetic steroid 17 alpha methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 84, p. 81 - 93, 1990.

SOUZA ED, *et al.* Extratos de hipófise de frango e coelho na indução reprodutiva da carpa comum (*Cyprinus carpio*). **Acta Scientiarum Animal Science**, v.25, p.99-107, 2003.

STREIT JR. D.P. Extrato de hipófise de frango e de coelho como indutores gonadais de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) macho e fêmea, em comparação com o extrato de hipófise de carpa. 2002. 36f. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.

SZABÓ T, MEDGUASSZA.Y. C., HORVÁTH, L. Ovulation induction in nase (*Chondrostoma nasus*, Cyprinidae) using

pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone. **Aquaculture**, v.203, p.389-395. 2002.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**, v.129, n.129, p.49-73, 1995.

VAZZOLLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá:169p. 1996.

WOYNAROVICH, E; HORVÁTH, L. **A propagação de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Tradução de Vera Lúcia Mixtro Chama. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1989, 225 p.

WOYNAROVICH E, HORVÁTH L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.

ZANIBONI FILHO,E., MARCOS WEINGARTNER, Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores; **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, jul./set. 2007.

ZANIBONI-FILHO E. Utilização do LHRH-a para a indução à espermiacção e desova do pacu-caranha *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Biotemas**, v.8, p.36-45, 1995.

ZOHAR Y, MYLONAS CC. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, v.197, p.99-136, 2001.

