



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA

Campus de Jaboticabal



*Desenvolvimento ovariano do Prochilodus lineatus em dois sistemas  
de produção: tanques rede e viveiros escavados*

**Patrick Hainfellner**  
*Zootecnista*

Jaboticabal – São Paulo

2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA

Campus de Jaboticabal



*Desenvolvimento ovariano do Prochilodus lineatus em dois sistemas de produção: tanques rede e viveiros escavados*

**Mestrando:** Patrick Hainfellner

**Orientador:** Sergio Ricardo Batlouni

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Caunesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura

**Jaboticabal – São Paulo**

**2011**

## *Poesia da Felicidade*

*“Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver  
Apesar de todos os desafios,  
Incompreensões e períodos de crise.  
Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas  
E se tornar um autor da própria história.  
É atravessar desertos fora de si,  
Mas ser capaz de encontrar um oásis  
No recôndito da sua alma.*

*É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.  
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.  
É saber falar de si mesmo.  
É ter coragem para ouvir um “não”.  
É ter segurança para receber uma crítica,  
Mesmo que injusta.*

*Pedras no caminho?  
Guardo todas, um dia vou  
Construir um castelo ....”*

*Fernando Pessoa*

*Dedico aos meus pais, Rosa Satiko Yaegashi Hainfellner e Carlos Horst Hainfellner (in memórium), como agradecimento por todas as ferramentas dadas com sacrifício para eu chegar até aqui. Mãe, obrigado por ter me ensinado a ser uma pessoa responsável, Pai, obrigado por ter me mostrado como ser uma pessoa boa e sempre ver uma solução ao invés de me preocupar com problemas.*

*Ao Prof. Sergio Ricardo Batlouni, pela orientação e amizade. Obrigado pelos cafés, chás, cervejas, horas de discussão, oportunidade, confiança, paciência e frases de motivação.*

*À Prof<sup>a</sup>. Laura Satiko Okada Nagashi, Histotécnico Orandi Mateus e amigos Nivaldo, Regiane, Fernanda e todos do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (FCAV-UNESP Jaboticabal), pelos materiais cedidos e trabalhos conjuntos realizados.*

*Ao Prof. Euclides Braga Malheiros pela preciosa ajuda na análise estatística dos dados.*

*Aos companheiros de laboratório, Thiago (Gordo), Mario (Safadinho), Rafael (Jack), Guilherme (Guidjerme), Thiago (Tilão), Eduardo (Du), Marianne (Mari) e Xina (Daniel), sem eles tudo seria mais difícil e menos engraçado!*

*À Dr<sup>a</sup>. Fabiana Pilarski e amigos do Laboratório de Patologia Róberson e Zé Bob, pela ajuda e pelo empréstimo de material.*

*À Prof<sup>a</sup>. Renata Guimarães Moreira e equipe pelo apoio durante as coletas e disponibilidade da estrutura laboratorial.*

*À Prof<sup>a</sup>. Teresa Cristina e amigos do Laboratório de Tilapicultura pela ajuda e empréstimo de materiais.*

*À Profa. Maria Célia Portella e amigos do Laboratório de Larvicultura e nutrição de larvas de peixes pelo empréstimo de materiais.*

*De forma geral agradeço a todos os amigos, que surgiram durante essa jornada, sejam docentes, funcionários, discentes e perdidos. Entre eles, Munir, Julian, Camila, Nicolas, Rosangela, Fabi, Thaís Lene, Cynthia Mara.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e ao Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), que através de seus docentes e funcionários possibilitaram a realização deste trabalho.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.*

*À minha namorada Thálita, por estar presente sempre nos momentos mais marcantes da minha vida, pelas ajudas tanto físicas (durante as coletas), quanto fisiológicas (trazendo lanche) e psicológicas (me escutando).*

*Te amo!*

*Aos curimbas que cederam suas vidas para um bem maior.*

*Finalmente a todos que de alguma maneira contribuíram para concretização deste trabalho...*

*E continuo dizendo: “No fim tudo dá certo, pelo menos para maioria!”*

**Muito Obrigado!**

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

SUMÁRIO DE FIGURAS.....	i
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

### CAPÍTULO II

RESUMO .....	27
ABSTRACT .....	29
1-INTRODUÇÃO .....	31
2-OBJETIVO.....	33
3-MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1. Animais e delineamento experimental.....	33
3.2. Condições de cultivo .....	34
3.3. Coletas amostrais.....	34
3.4. Avaliação da qualidade do processo de formação de ovócitos ....	36
3.5. Análise dos esteróides gonadais .....	37
3.6. Análise estatística .....	37
4-RESULTADOS.....	38
4.1. Desenvolvimento ovocitário.....	38
4.2. Esteróides gonadais .....	45
4.3. Crescimento e peso.....	46
4.4. Fator de condição K.....	48
4.5 Índice viscerossomático (IVS).....	49
4.6. Índice hepatossomático (IHS) .....	50

5-DISCUSSÃO.....	51
5.1. Considerações gerais.....	51
5.2. Desenvolvimento ovocitário.....	52
5.3. Esteróides gonadais .....	56
5.4. Sistemas de produção.....	58
5.5. Crescimento, peso e fator K.....	59
5.6. Índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS).....	62
6-CONCLUSÃO.....	64
7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65



## SUMÁRIO DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Médias bimestrais dos valores do Índice Gonadossomático das fêmeas mantidas em VE e TR.....38
- Figura 2.** Frequência percentual dos diferentes tipos de ovócitos encontrados em cada coleta para as fêmeas de VE e TR.....39
- Figura 3.** . Médias bimestrais do volume dos ovócitos vitelogênicos das fêmeas mantidas em VE e TR.....40
- Figura 4.** Médias bimestrais do volume dos ovócitos pré-vitelogênicos das fêmeas mantidas em VE e TR.....41
- Figura 5.** Descrição histológica dos ovários nos distintos bimestres ao longo do ano nos dois tratamentos.....42
- Figura 6.** Fotos dos ovários nos distintos bimestres ao longo do ano nos dois tratamentos.....44
- Figura 7.** Concentração plasmática média dos esteróides gonadais ao longo das coletas nos dois tratamentos.....45
- Figura 8.** Médias bimestrais dos valores do peso e comprimento total (CT) das fêmeas mantidas em VE e TR.....47
- Figura 9.** Médias bimestrais dos valores do fator de condição K e  $\Delta K$  das fêmeas mantidas em VE e TR.....48

**Figura 10.** Médias bimestrais dos valores do índice viscerossomático das fêmeas mantidas em VE e TR.....49

**Figura 11.** Médias bimestrais dos valores do índice hepatossomático das fêmeas mantidas em VE e TR.....50

# CAPÍTULO I

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil, apesar de ser o portador do maior número de espécies de peixes de água doce do mundo, por razões econômicas e culturais, tem sua piscicultura constituída principalmente pela criação de espécies exóticas, tais como as trutas, as carpas e principalmente as tilápias, enquanto que as espécies nativas são produzidas em menor escala (FAO, 2006). Dentre as espécies dulciaquícolas, normalmente são os migradores nativos que apresentam maior preço de mercado (Ceccarelli *et al.*, 2000; Zaniboni-Filho *et al.*, 2007). Os peixes migradores ou reofílicos são aqueles que durante um determinado período realizam migrações ao longo dos rios para se reproduzir (Vazzoler e Menezes, 1992; Resende *et al.*, 1996; Lucas e Baras, 2001; Vicentin *et al.*, 2004; Alvarenga *et al.*, 2006; Capeleti e Petreire, 2006; Honji 2007; Godinho *et al.*, 2007; Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007).

A maioria dos peixes reofílicos desova várias vezes na vida sendo este um processo que ocorre em intervalos que se repetem. Nestas espécies, os ovócitos normalmente maturam e são liberados em um único lote (desovadores totais) e o processo de reprodução natural direciona a produção dos jovens no período do ano mais favorável para a sobrevivência (estação das cheias), quando existe alimento abundante para um crescimento rápido e maior proteção contra predadores. A estratégia de realizar migração entre os locais de alimentação e desova permite que estas espécies maximizem o aproveitamento do ecossistema buscando os melhores locais para cada uma das etapas do ciclo de vida. O sucesso da reprodução dos peixes reofílicos depende de um ajuste temporal que garanta que a desova ocorrerá quando as condições ambientais se

apresentem as mais favoráveis para a sobrevivência dos descendentes (Munro *et al.*, 1990; Zaniboni-Filho e Weingarner, 2007). Desta forma, precisa existir uma sincronia perfeita para que o processo de desenvolvimento ovocitário permita que as fêmeas estejam aptas para desovar na curta estação de desova.

Porém, quando em cativeiro, apesar de muitas destas espécies apresentarem suas gônadas desenvolvidas até estágios avançados de maturação, as etapas finais do processo reprodutivo, tais como maturação final dos ovócitos, ovulação e desova, só são atingidas mediante tratamentos hormonais (Godinho *et al.*, 1984; Romagosa *et al.*, 1988 e 1990; Romagosa, 1998; Narahara *et al.*, 1988; Agostinho *et al.*, 2003; Batlouni *et al.*, 2006; Zaniboni-Filho *et al.*, 1988 e 2007 e outros). A razão destas espécies não atingirem as etapas finais do processo reprodutivo em cativeiro é desconhecida, embora, provavelmente esteja ligada ao controle neuro-endócrino da reprodução nestes animais. De modo generalizado, a reprodução em peixes é controlada por um sistema endógeno, o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, que sintetiza e libera diversos hormônios. Este sistema é modulado por fatores ambientais (temperatura da água, foto-período, chuvas e outros), os quais têm um papel fundamental, mas ainda pouco elucidado, no processo de desenvolvimento gonadal, maturação final, liberação e fertilização de ovócitos (Billard *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997; Schulz *et al.*, 2001; Weltzien *et al.*, 2004; Aguilheiro *et al.*, 2006; Bobe e Labbé, 2010). Desta forma, a reprodução é então induzida artificialmente mediante a aplicação de hormônios nos machos e nas fêmeas aptos para a reprodução, o que desencadeia o processo de maturação final dos ovócitos liberação e fertilização dos mesmos. Nos machos, o tratamento hormonal aumenta o volume e a fluidez do sêmen (Zaniboni-Filho e Weingarner, 2007).

Desse modo, o desenvolvimento de técnicas de indução da reprodução de peixes migradores permitiu uma certa produção destas espécies em cativeiro. Anteriormente, a obtenção das formas jovens dessas espécies dependia da captura no ambiente natural (Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007). Nesse sentido, merece ser ressaltado que o sucesso na reprodução de peixes migradores foi subsidiado por dezenas de trabalhos realizados ao longo das últimas décadas, sobre o conhecimento da fisiologia da reprodução associado aos estudos da biologia reprodutiva dos peixes migradores nativos do Brasil com importância comercial (Andrade, 1980; Godinho *et al.*, 1984, Fenerich-Verani *et al.*, 1984; Andrade-Talmelli, 1997; Romagosa, 1998, Romagosa *et al.*, 1990 e 2003; Sato *et al.*, 1996; Leonardo *et al.*, 2004; Camargo *et al.*, 2008; Takahashi *et al.*, 2008 e outros).

Porém, atualmente, é muito comum deparar-se com relatos de produtores de alevinos e de pesquisadores sobre resultados inadequados e ou insuficientes obtidos com a reprodução induzida por hormônios. Os problemas relatados podem estar em distintas etapas do processo de indução hormonal. Muitas vezes reprodutores considerados aptos (maduros) para serem hormonalmente induzidos não respondem adequadamente aos tratamentos, não liberando quantidade suficiente de ovócitos e sêmen, e muitas vezes morrendo após a indução. Verifica-se, ainda, uma enorme quantidade de ovos fecundados que não eclodem nas incubadoras e larvas com problemas de má formação e baixas taxas de sobrevivência. Mesmo considerando-se possíveis falhas humanas nas diversas etapas da técnica de indução e as características peculiares de cada espécie, fortes evidências sugerem que muitas vezes, tanto os reprodutores como seus ovócitos não se apresentam em boas condições no momento da indução hormonal. Muitas vezes o problema ocorre porque os reprodutores são

submetidos às mesmas condições de manejo aplicadas nas fases de crescimento e engorda (Woynaróvich, 1996; Andrade, 2007).

Em face destes acontecimentos, alguns pesquisadores preocupados com esta situação desenvolveram estudos com o objetivo de incrementar os resultados da reprodução induzida. Estes estudos revelam que é possível melhorar o rendimento da reprodução induzida de espécies migradoras nativas estabelecendo, para os reprodutores de cada espécie, condições adequadas de manejo no que se refere: à seleção precisa dos indivíduos aptos a serem hormonalmente induzidos (Fenerich-Verani *et al.*, 1984); à nutrição (Moreira *et al.*, 2003 a e b, 2004; Andrade, 2007, Camargo *et al.*, 2008); ao sistema de criação; ao método de indução hormonal (Streit *et al.*, 2003 e 2004; Moraes *et al.*, 2004); ao manejo dos gametas no momento da fertilização (Andrade-Talmelli *et al.*, 2001, Luz *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2001); e finalmente à razão espermatozóides/ovócito ideal para cada espécie (Shimoda *et al.*, 2007).

No entanto, ainda é pouco o que se sabe acerca dos efeitos do manejo sobre a qualidade dos ovócitos, muito menos ao longo de suas distintas fases de desenvolvimento, sobretudo na fase vitelogênica, período de extrema importância, pois é a fase onde ocorre a síntese e acúmulo da substância responsável pela sobrevivência das larvas, o vitelo (Guraya, 1969). O processo de maturação ovariana e de desenvolvimento ovocitário é altamente complexo e envolve distintas fases. Desta forma, mesmo após décadas de pesquisa com peixes reofílicos, permanecem inexploradas as formas pelas quais as distintas fases de desenvolvimento ovocitário (crescimento primário, crescimento secundário, alvéolo cortical e vitelogênese) são afetadas pelas condições inadequadas de manejo. Neste contexto, diversos outros pontos permanecem desconhecidos, tais como: o manejo inadequado induz a morte por

apoptose dos ovócitos? Se sim, quais as fases mais afetadas? O período reprodutivo pode ser encurtado por condições inadequadas de manejo? O sistema de produção pode alterar a fecundidade dos animais? O objetivo de procurar respostas para todas estas perguntas é primeiramente conhecer melhor o efeito das práticas de manejo sobre a maturação ovariana dos peixes, como também, estabelecer práticas de manejo específicas para cada uma das fases de desenvolvimento ovocitário que ocorrem em momentos distintos ao longo do ano.

Deve-se ressaltar aqui que estudos revelam que os ovócitos começam a ser formados muito antes da época de reprodução, através de um longo e complexo processo (entre 12 e 15 meses), que envolve uma intensa atividade metabólica. O início do desenvolvimento ovocitário se dá normalmente ainda no inverno, muitos meses antes da reprodução, em estágios classificados como “repouso” ou “início de maturação”. Neste período, células indiferenciadas precursoras dos ovócitos, conhecidas como ovogônias, entram em atividade mitótica e rapidamente se diferenciam em ovócitos, os quais iniciam uma fase de desenvolvimento conhecida como “crescimento primário”. Esta fase é essencial para a qualidade final do ovo, pois é nela que ocorre um grande acúmulo de substâncias e organelas celulares, que serão responsáveis por parte da produção do vitelo nas fases subsequentes de desenvolvimento. Cabe ressaltar que o vitelo é a reserva nutricional do ovo, e dele dependerá a sobrevivência do embrião (Guraya, 1969 e 1994; Nagahama, 2008).

Após o crescimento primário, em resposta a estímulos ambientais, ocorrem periódicas descargas de hormônios hipofisários na corrente sanguínea os quais induzem o início da produção de vitelo (vitelogenese). Dados de espécies de peixes de regiões temperadas mostram que o principal desencadeador deste processo é o hormônio

folículo estimulante (FSH) produzido pela hipófise (Nagahama, 2008). Este processo é responsável pelo aumento do peso dos ovários de muitos peixes, que varia de 1% (aproximadamente) para cerca de 20 % do peso do animal no período pré desova. Dados de campo e a experiência dos produtores ao longo de décadas indicam que neste período matrizes condicionadas em viveiros escavados e em reduzidas densidades de estocagem (1 a 8 m<sup>2</sup>/ reprodutor), contendo água de boa qualidade, são capazes de produzir ovócitos de melhor qualidade, pois a fase vitelogênica é caracterizada por uma intensa atividade metabólica, na qual o consumo de oxigênio e a incorporação de aminoácidos são aumentadas muitas vezes (revisão em Guraya, 1969).

Depois de concluída a vitelogênese, a atividade ovariana se torna mais reduzida e continua em sintonia com às condições ambientais, para garantir que a liberação dos ovócitos coincida com o período em que as características ambientais estejam mais adequadas, propiciando as condições ideais de sobrevivência para a prole. Esta fase do processo de maturação ovariana é classificada como “período de dormência”, e sua duração varia entre as espécies, sendo observados períodos desde poucas semanas até alguns meses. Alguns dados sugerem que condições adequadas de manejo podem estender o período de dormência (Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007). Esta possibilidade traria enormes benefícios para o cultivo destas espécies, pois com um período de dormência mais longo seria possível selecionar matrizes por mais tempo, aumentando conseqüentemente, a oferta de alevinos que seguramente seriam de melhor qualidade.

Os ovócitos no estágio de dormência ficam prontos para o próximo passo da ovogênese que é a retomada da meiose. A este processo dá-se o nome de maturação final do ovócito, que ocorre antes da ovulação e é um pré-requisito para a fertilização .



Posteriormente, os ovócitos maduros precisam ser liberados das células foliculares circundantes para serem fertilizados, processo chamado de ovulação (Guraya, 1969; Grier *et al.*, 2007). Tanto a maturação final como a ovulação precisam ser hormonalmente induzidas em cativeiro, e dados de espécies de peixes de regiões temperadas sugerem que o principal agente deste processo é o hormônio luteinizante (LH). A liberação dos ovócitos na luz do ovário se dá após uma pequena hidratação dos ovócitos, promovendo um aumento de volume destes, e o consequente rompimento do envelope folicular. Após o rompimento da ligação com as células foliculares os ovócitos perdem contato com a corrente sanguínea que lhes proporcionava suprimento alimentar e trocas gasosas (Guraya 1969; Nagahama 2008). As reservas alimentares dos ovócitos têm extrema importância neste período, pois lhes possibilitam sobrevivência até o início da alimentação exógena que ocorre dias depois da ovulação (Zaniboni-Filho e Weingarner, 2007).

Desta forma, é bastante provável que matrizes bem nutridas e mantidas em águas limpas e bem oxigenadas apresentem na época de reprodução ovócitos de excelente qualidade, aumentando as chances de sucesso reprodutivo. Neste contexto, cabe ressaltar que a alimentação adequada dos reprodutores e principalmente a disponibilidade de oxigênio dissolvido na água estão intimamente ligados aos sistemas de criação e a densidade de estocagem (massa de peixe por m<sup>3</sup> de água).

Com relação aos sistemas de criação, de maneira sumarizada, eles são classificados como extensivos ou intensivos. No sistema extensivo, a piscicultura é praticada em viveiros de mais de 5000 m<sup>2</sup>, com pouca renovação de água. Normalmente, não se avalia a qualidade da água e nem se alimenta os peixes, que comem alimento presente na água. Neste sistema, a produtividade é mais baixa e varia

de 100 a 1000 kg/hectare/ano. O sistema intensivo de produção pode ser, de acordo com Ceccarelli e colaboradores (2000): 1) semi-intensivo o mais utilizado no mundo, utilizam-se viveiros escavados (1000 a 60000 m<sup>2</sup> de área), um a dez por cento da água é renovada, e incrementa-se o alimento natural com adubos e fertilizantes, podendo ainda serem fornecidos complementos vegetal, animal ou mesmo ração; 2) sistema intensivo, propriamente dita, realizado em viveiros escavados (100 a 200m<sup>2</sup> de área com profundidade de aproximadamente de 1,5m) construídos especialmente para esta finalidade. Neste sistema, aplica-se o monocultivo, fornece-se apenas ração, e sistema a produção varia de 10000 a 20000 kg/hectare/ano.

A criação em tanques-rede é outro sistema de criação que tem sido bastante empregado, principalmente em locais em que não se pode ter um bom controle do ambiente de criação. Na descrição geral deste sistema foi feita por Ceccarelli e colaboradores (2000) o tamanho destes tanques varia de 1 a 200m<sup>3</sup>. As densidades de estocagem (peso.m<sup>-3</sup>) devem ser calculadas considerando-se o peso estimado no momento da retirada dos peixes do tanque-rede. Em gaiolas de até 4m<sup>3</sup>, a biomassa economicamente ideal é a de cerca de 150kg.m<sup>-3</sup>. Para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, uma das espécies mais estudadas em condições de tanque-rede, em ambiente pequeno, com pouca vazão, geralmente a capacidade do tanque – rede é de 30kg.m<sup>-3</sup>. Em ambientes grandes, com pouca vazão de água, essa capacidade pode ser expandida até 200kg.m<sup>-3</sup>. O recomendado, no entanto, é o valor intermediário entre 50 a 70kg.m<sup>-3</sup>. No caso do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a recomendação no Brasil é de 30 a 40kg.m<sup>-3</sup>.

O curimatá, *Prochilodus lineatus* é umas das espécies migradoras nativas mais bem estudadas, porém não se conhece nada sobre densidade de estocagem para

matrizes. Nas últimas décadas foram geradas valiosas informações sobre sua reprodução induzida (Fenerich-Verani *et al.*, 1984; Godinho *et al.*, 1984; Godinho e Ribeiro, 1985), e larvicultura (Cestarolli e Portella, 1994; Cestarolli *et al.*, 1997; Salles, 1998; Portella *et al.*, 2000; Zaniboni-Filho *et al.*, 2008). Sabe-se que, quando mantidos em cativeiro, a maturidade sexual é atingida aos dois anos de idade nas fêmeas e um ano nos machos (Godinho e Ribeiro, 1985). Dados sobre a reprodução induzida da espécie indicam que a mesma é obtida com relativa facilidade em matrizes corretamente selecionadas, com uso de gonadotrofina coriônica humana (HCG) (Godinho *et al.*, 1984, Fenerich-Verani *et al.*, 1984) ou com extrato hipofisário de salmão (Godinho *et al.*, 1984). No entanto, pouco se sabe sobre o manejo adequado (alimentação, densidade etc) de seus reprodutores como também das demais espécies reofílicas nativas. Normalmente os reprodutores destas espécies são mantidos com as mesmas condições de manejo aplicado aos animais em processo de engorda. Às vezes, certos cuidados são de fato tomados por parte de piscicultores mais experientes, que povoam os viveiros com peixes em densidade de estocagem reduzida, e mantém os viveiros em condições sanitárias adequadas.

No entanto, a resposta dos reprodutores frente aos tratamentos hormonais ainda permanece incerta. Relatos de produtores e observações mostram que, mesmo não documentados cientificamente, os resultados oscilam demais entre as desovas e entre anos consecutivos. Permanecem desconhecidas ainda as razões pelas quais frequentemente as fêmeas não ovulam, as baixas taxas de sobrevivência de ovos e larvas (sem aparente explicação) ou respostas inesperadas como morte de embriões nas incubadoras. Neste contexto, dentre as práticas de manejo, os sistemas de criação dos

reprodutores tem um caráter primordial e por isso o conhecimento de seus reflexos sobre o processo de desenvolvimento ovocitário merece atenção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho AA, Gomes LC, Suzuki HI, Júlio HF. Migratory fish from the upper Paraná River Basin, Brazil. In: Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C. & Baer, A. (Eds). Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status. World Fisheries Trust. The World Bank and the International Development Research Centre. Victoria. 372p, 2003.
- Aguilleiro B, Garcia-Hernández MP, García-Ayala A. Teleost adenohipophysis: morphofunctional and developmental aspects. 287-323. In: Reinecke, M, Zaccone G, Kappor BG. Fish Endocrinology. Science Publishers. volume 01. 440p, 2006.
- Alvarenga ER, Bazzoli N, Santos GB, Rizzo E. Reproductive biology and feeding of *Curimatella lepidura* (Eigenmann & Eigenmann) (Pisces, Curimatidae) in Juramento reservoir, Minas Gerais, Brazil. Rev. Braz. Zool. 23 (2):314-322, 2006.
- Andrade DR. Variação cíclica anual da espermatogênese em *Leporinus silvestrii* (Boulenger, 1902). Peixe, Teleósteo. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 87 p. (Dissertação de Mestrado), 1980.
- Andrade VXL. Desempenho reprodutivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829), criado em sistema intensivo com dietas contendo diferentes níveis protéicos e suplementada com óleo de milho. Centro de Aquicultura da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Neto” – CAUNESP, Area de concentração – Aquicultura, 2007.
- Andrade-Talmelli EF. A Indução Reprodutiva e Ontogenia inicial da piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) (Characiformes, Bryconinae), mantida em

- connamento Vale do Paraíba, SP São Carlos, Universidade Federal de São Carlos. 185 p., (Dissertação de Mestrado). 1997.
- Andrade-Talmelli EF, Kavamoto ET, Fenerich-Verani N. Características seminais da piabanha, *Brycon insignis* (steindachner, 1876), após estimulação hormonal. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 27(2): 149 - 154, 2001
- Batlouni SR, Romagosa E, Borella MI. The reproductive cycle of male catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium. An approach addressed to aquaculture. An. Reprod. Sci. 96, 116-132. 2006.
- Billard R, Le Gac F, Loir M. Hormonal control of sperm production in teleost fish .Prog. Clin. Biol. Res.;342:329-35, 1990.
- Bobé J, Labbé C. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, 165, p. 535 – 548, 2010.
- Brooks S, Tyler CR, Sumpter J. Egg quality in fish: what makes a good egg? Reviews in fish and fisheries, 7, 387-416. 1997.
- Camargo, ACS. Zaiden, SF, Urbinati EC. Desenvolvimento gonadal de fêmeas de matrinxã (*Brycon cephalus*) submetidas à restrição alimentar.. Ciência Rural, v. 38, p. 1105-,1110, 2008.
- Capeleti AR, Petrere Jr M. Migration of the curimbatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Pisces, Prochilodontidae) at the waterfall “Cachoeira de Emas” of the Mogi Guaçu river- São Paulo, Brazil. Braz. J. Biol., 66 (2B): 651-659, 2006.
- Ceccarelli PS, Senhorini JA, Volpato G. Dicas em piscicultura - perguntas e respostas. Botucatu: Ed. Santana, 247p, 2000.

- Cestarolli MA, Portella MC, Rojas NET. Efeitos do nível de alimentação e do tipo de alimento na sobrevivência e no desempenho inicial de larvas de curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner,1881). Boletim do Instituto de Pesca, 24: 119-129, 1997.
- Cestarolli MA, Portella MC. Larvicultura de peixes: uma abordagem em escala piloto. Comunicação da Pesquisa Agropecuária, 12 (2): 28-29. São Paulo. Maio/agosto. 1994.
- FAO – Fisheries Department.. State of world aquaculture. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations. 145p.<http://www.fao.org> 2006
- Fenerich-Verani N, Godinho HM, Narahara MY. The size composition of the eggs of curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), induced to spawn with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 42, 37-41, 1984.
- Ferreira AA, Nuñez APO, Luz RK, Tataje DAR, Esquivel JR, Restrepo JB. Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen do Jundiá, *Rhamdia quelen*. Bol. Inst. Pesca, São Paulo, 27 (1): 57-60, 2001
- Godinho HM, Romagosa E, Cestarolli MA, Narahara MY, Fenerich-Verani N. Reprodução induzida de curimatá, *Prochilodus scrofa*, Steind. 1881 sob condições de cultivo experimental. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, 8 (2): 113-119, 1984.
- Godinho HP, Ribeiro DM. Maturidade sexual de curimatás, *Prochilodus scrofa* (Pisces, Teleostei), em viveiros. Arq. Brás. Méd. Vet. Zoot. 37 (4): 349-57, 1985.
- Godinho AL, Kynard B, Godinho HP. Migration and spawning of female surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*, Pimelodidae) in the São Francisco river, Brazil. Environ. Biol. Fish.: 80 421-433, 2007.

- Grier, HJ, Uribe, MC, Parenti LR. Germinal epithelium, folliculogenesis, and postovulatory follicles in ovaries of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes). *Journal of Morphology*. 268: 293-310, 2007.
- Guraya SS. The cell and molecular biology of fish oogenesis. In: *Monographs in developmental biology* (Ed. Sauer HW). Karger, 1969.
- Honji R M. Caracterização endócrina durante o ciclo reprodutivo de tabarana *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae), em três ambientes distintos: natural, impactado e cativo. Dissertação (Mestrado em Pós-graduação em Ciências (Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências - USP. 2007.
- Leonardo AFG, Romagosa E, Borella MI, Batlouni S.R. Characterization and Hormonal Efficiency in Female Cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), kept in captivity. *Aquaculture, The Netherlands*, v.240, p.451- 461, 2004.
- Lucas MC, Baras E..Migration of freshwater fishes. Blackwell Science. 420p. 2001
- Luz RK, Ferreira AA, Reynalt DT, Zaniboni Filho E. Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen de suruvi, *Steindachneridion scripta* (Pimelodidae). *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 27 (1): 39 - 42, 2001.
- Moreira RG, Parrish CC, Senhorini JÁ, Orozco-Zapata CR, Bicudo JEPW. Effects of broodstock diet on lipid classes of pacu *Piaractus mesopotamicus* eggs and larvae. XXI Congresso da Associação Latina Americana de Ciências Fisiológicas (ALACF), Ribeirão Preto, SP, pg. 305. 2003a.
- Moreira RG, Parrish CC, Senhorini JA, Orozco-Zapata CR, Bicudo JEPW. Effects of Broodstock diet on fatty acid composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* eggs and larvae. WAS Salvador, BA, pg. 500. 2003b.

- Moreira RG, Orozco-Zapata CR, Schreiner M, Colquhoun A, Silva TFC, Mimura OM. Influence of broodstock dietary fatty acids on egg lipid composition of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Pisces, Teleostei, Pimelodidae). 6th International Congress on the Biology of Fish – Manaus, AM, Brazil, 2004.
- Munro A D, Scott A P, Lam TJ. Reproductive seasonality in teleosts : environmental influences, Boca Raton, 254 p, 1990.
- Narahara MY, Basile-Martins MA, Godinho HM, Cipólli MN. Escala de maturidade, época de reprodução e influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gonadal de *Rhamdia hillarii* (Valenciennes, 1840). Boletim do Instituto de Pesca , São Paulo, 15 (2): 201-2111. 1988
- Nagahama Y, Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish. Develop. Growth Differ. 50, S195-S219. 2008.
- Portella MC, Verani JR, Carneiro DJ, Cestaroli MA. The feeding of *Prochilodus scrofa* larvae and fry – method of analysis based on the relative condition factor. Boletim do Instituto de Pesca, 26 (2): 9-15 . 2000.
- Resende EK, Catella AC, Nascimento FL, Palmeiras SS, Pereira RAC, Lima MS, Almeida VLL. Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul. Corumbá, MS: EMBRAPA-CPAP. Boletim de Pesquisa, 02. 75p. 1996.
- Romagosa E, Paiva P, Godinho HM, Storfer EB. Desenvolvimento de ovócitos de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (*Colossoma mitrei* Berg, 1895) em condições de cultivo intensivo. Ciência e cultura 40 (1): 60-64. 1988.



- Romagosa E, Paiva P, Godinho HM, Guilherme MCM. Fecundidade do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), mantido em confinamento, durante o 1o e o 2o período reprodutivo. B. Inst. Pesca 17 (único); 99-103, 1990.
- Romagosa E. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus*, (Günther, 1869) em cativeiro. Vale do Paraíba, São Paulo. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. 218p. 1998.
- Romagosa E, Paiva P, Godinho HM, Talmelli E. Características morfométricas e crescimento do cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* em cativeiro. Acta Scientiarum, Maringá, v.2, n.7, p.277- 283, 2003.
- Salles FA. Aspectos técnicos e econômicos da larvicultura intensiva do curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindacher, 1881), em escala massal. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista. Centro de Aquicultura da UNESP. Campos de Jaboticabal. 53p. 1998.
- Sato Y, Cardoso EL, Godinho AL, Godinho HP. Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the São Francisco basin, Brazil. Qr. Brás. Méd. Vet. Zootec., 48 (1). 55-62. 1996.
- Schulz RW, Vischer HF, Cavaco JE, Santos EM, Tyler CR, Goos HJ, Bogerd J. Gonadotropins, their receptors, and the regulation of testicular functions in fish. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. Jun;129(2-3):407-17, 2001.
- Shimoda E, Andrade DR, Vidal Junior MV, Godinho HP, Yasui GS. Determinação da razão ótima de espermatozoides por ovócitos de piabanha *Brycon insignis* (pisces-characidae). Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec, v. 59, n.4, p. 887-882, 2007.

- Streit Jr DP, Moraes GV, Povh, JA. Morphopatology evaluation of curimba *Prochilodus lineatus* semen induced with broiler chicken and rabbit hypophysis extract. In: World Aquaculture 2003, Salvador, Brazil. Proceedings. Salvador. p. 759 , 2003.
- Streit jr DP, Moraes GV, RibeiroRP, Povh JÁ, Souza ED, Oliveira CAL. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama, 7(2): 157-162, 2004.
- Takahashi E L H, Gointein R, Nakaghi L S O. Maturidade do ovário no cascudo *Hypostomus strigaticeps* (Siluriformes, Loricaridae). Acta Scientiarum. Biological Sciences (Online), v. 30, p. 107-112, 2008.
- Vazzoler, AEAM. & Menezes, N. A.. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). Revista Brasileira de Biologia 52 (4): 627-640. 1992.
- Vicentin W, Costa FES, Marques SP, Zuntini D, Barbosa EG. Fator de condição e relação peso x comprimento de *Prochilodus lineatus*, capturados na cabeceira do Rio Miranda, MS. IV Simpósio Sobre Recursos Naturais e Sócio – econômicos do Pantanal (SIMPAN), Corumbá, 2004.
- Weltzien FA, Andersson E, Andersen A, Shalchian-Tabrizi K, Norberg B. The brain-pituitary-gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). Comparative Biochemistry and Physiology (A) 137: 447-277. 2004.
- Woynaróvich E, 1986. In: Tambaqui e pirapitinga: Propagação artificial e criação de alevinos. CODEVASF, DF, Brasil, 66 p. Vazzoler AEAM. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, 1996.

Zaniboni-Filho E, Resende EK. Anatomia de gônadas, escala de de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). Ver. Brasil. Biol., 48 (4): 833-844. 1988.

Zaniboni-Filho E, Weingartner Marcos. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores (Induced breeding in migratory fishes). Rev. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, jul./set. 2007.

Zaniboni-Filho E, Nuñez APO, Reynalte-Tataje DA, Serafini RL. Water pH and *Prochilodus lineatus* larvae survival. Fish. Physiology Biochem. 2008.

Artigo foi redigido conforme as normas de publicação da revista *Theriogenology*, ano de 2011.

## CAPÍTULO II

### **O desenvolvimento ovocitário de matrizes de *Prochilodus lineatus* é comprometido em tanques-redes, mas não em viveiros escavados.**

#### **RESUMO**

O desenvolvimento de técnicas para indução à reprodução de peixes migradores (espécies reofílicas) de água doce possibilitou uma produção consistente de larvas destas espécies, embora, seja comum deparar-se com relatos de produtores sobre fêmeas que não ovulam adequadamente ou simplesmente não ovulam após os procedimentos de desova induzida. Algumas evidências sugerem que a origem deste problema pode estar ligada ao manejo inadequado das matrizes. Infelizmente pouco se sabe sobre o manejo correto de reprodutores de peixes reofílicos em cativeiro. Deste modo, a proposta deste estudo foi avaliar comparativamente o processo de desenvolvimento ovocitário de reprodutores de *Prochilodus lineatus* mantidos em dois sistemas de criação: viveiros escavados (VE) e tanques rede (TR), seguindo as densidades de 1 peixe.m<sup>2</sup> e 17 peixes.m<sup>3</sup> respectivamente. A escolha do TR se deu por ser um sistema que simula experimentalmente muitas das condições inadequadas de manejo empregadas em diversas pisciculturas, tais como: elevadas densidades de estocagem e água de má qualidade. A cada dois meses foram feitas amostragens de 30 animais de cada tratamento, de onde 5 fêmeas foram escolhidas ao acaso e sacrificadas para remoção das gônadas, fígado e vísceras para determinação dos índices gonado (IGS), hepato e viscero-somático, fator K, e para as análises histomorfométricas dos ovários. Amostras de sangue foram coletadas para a determinação da variação anual dos níveis de esteróides gonadais (estradiol e 17-alfa-hidroxiprogesterona). Os resultados mostraram

que o processo de maturação ovariana foi comprometido nas fêmeas mantidas em TR, com redução significativa no volume dos ovócitos vitelogênicos, na concentração de estradiol, hidroxiprogesterona e no IGS. Além disso, o período reprodutivo foi encurtado e iniciou-se tardiamente em relação ao das fêmeas mantidas em VE. Os parâmetros de crescimento, peso e o fator de condição K foram também significativamente inferiores em TR. As condições propiciadas pelos TRs impactaram o processo de desenvolvimento ovocitário em especial a fase vitelogênica. Estes resultados mostram o efeito nocivo do sistema de produção sobre as matrizes e indica que o sistema de TR não é um sistema apropriado para matrizes de *Prochilodus lineatus* e provavelmente para outras espécies reofílicas.

Palavras-chaves: *Prochilodus lineatus*, peixes reofílicos, desenvolvimento ovocitário, esteróides gonadais, sistemas de produção, reprodução.

## **THE PROCESS OF OOCYTE DEVELOPMENT IN *P. LINEATUS* BREEDERS IS IMPAIRED IN CAGES BUT NOT IN EARTHEN PONDS**

### **ABSTRACT**

The development of techniques of induced breeding of South American migratory fresh water fish (rheophilic species) has enabled a consistent production of fingerlings of these species, however nowadays it is very common to come across reports of fingerling producers about females that do not ovulate properly or just do not ovulate. In this context, some evidences suggest that the origin of such problem may be an inappropriate broodstock management. Unfortunately few is known about the proper management of migratory breeders in captivity, thus the main purpose of this study was to evaluate, comparatively, the process of oocyte production in *Prochilodus lineatus* breeders kept into two distinct production systems: earthen ponds (EP) and cages (C), with the following stocking densities 1fish.m<sup>2</sup> and 17fish.m<sup>3</sup> respectively. The reasons for the choice of C was because this system shares a number of inappropriate characteristics employed in diverse fish farms, such as high stocking densities and poor water quality. Every two months thirty specimens of one of the EP and C unities were randomly collected for biometric analysis. After that, five specimens of each treatment were randomly chosen to be sacrificed for removal of gonads, liver and viscera for determination of gonadosomatic index (GSI), hepato-and viscero-somatic indexes, K factor, and also for the histomorphometric analysis of the ovaries. Blood samples were also collected for determining the annual variation in plasma gonadal steroids levels (stradiol and 17 alpha-hydroxyprogesterone).The results showed that the process of ovarian maturation is completely compromised in females kept in C, with significant

reduction in the volume of vitellogenic oocytes, estradiol, hydroxyprogesterone, and consequently in the GSI values. Besides the reproductive period is shortened and starts late in relation to that of females of VE. The growth parameters, weight and K conditional factor were also significantly lower in TR. The conditions offered by TR impacted the whole process of oocyte development in particular the vitellogenic phase. These results showed by the first time the harmful effects of production system upon rheophilic breeders in cages and ensures that cages are not appropriate production systems for *Prochilodus lineatus* breeders and quite possibly also for any other rheophilic species.

Keywords: *Prochilodus lineatus*, rheophilic fish, oocyte development, gonadal steroids, production systems, reproduction.



## 1- INTRODUÇÃO

O Brasil, apesar de ser o portador do maior número de espécies de peixes de água doce do mundo, por razões econômicas e culturais, tem sua piscicultura continental constituída principalmente pelo cultivo de espécies exóticas (FAO, 2006).

Dentre as espécies de peixes dulciaquícolos, muitas vezes, os peixes migradores nativos são os que apresentam maior preço de mercado (Ceccarelli *et al.*, 2000; Zaniboni-Filho e Weingarner, 2007). Neste contexto, o nível incipiente do conhecimento destas espécies e ausência de pacotes tecnológicos consolidados para a produção das mesmas figuram entre os principais responsáveis por estes fatores (Dias Neto e Saccarado, 2002). Não é por acaso que as espécies mais cultivadas no Brasil - carpas, tilápias, trutas, camarões marinhos e ostras - são as mais cultivadas em todo mundo. A importância de gerar este conhecimento e estabelecer pacotes tecnológicos definidos é principalmente dar ao aquicultor alguma segurança de sucesso (Dias Neto e Saccarado, 2002)

As espécies reofílicas quando mantidas em cativeiro, apesar de muitas vezes apresentarem suas gônadas desenvolvidas até estágios avançados de maturação, não atingem as etapas finais do processo reprodutivo, tais como, a maturação final dos ovócitos, a ovulação e a desova, possível apenas mediante tratamentos hormonais (Godinho *et al.*, 1984; Romagosa *et al.*, 1988 e 1990; Romagosa, 1998; Narahara *et al.*, 1988; Agostinho *et al.*, 2003; Batlouni *et al.*, 2006; Honji, 2007; Zaniboni-Filho *et al.*, 1988, 2007). No entanto, por motivos ainda desconhecidos, alguns reprodutores têm reações adversas após a indução hormonal, que podem ser: retenção de gametas, formação de grumos no ovário, desova infértil e até morte do reprodutor. A irregularidade nos resultados observados com a reprodução em cativeiro destas espécies

é certamente um dos principais fatores de prejuízo financeiro para produtores destas espécies.

Diversos trabalhos ao longo de décadas focaram o desempenho reprodutivo de espécies migradoras durante a desova artificial. Foram desenvolvidos trabalhos com curimatá, *Prochilodus lineatus* (Castagnolli e Cyrino, 1980; Godinho *et al.*, 1984), dourado, *Salminus maxillosus* (Dumont-Neto *et al.*, 1997), curimatã-pacu, *Prochilodus margravii* (Sato *et al.*, 1996), pacu, *Piaractus mesopotamicus* (*Colossoma mitrei*) (Castagnolli e Donaldson, 1981, Romagosa *et al.*, 1985), mandi, *Pimelodus maculatus* (Fenerich *et al.*, 1974), Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus*, (Narahara *et al.*, 2002) e cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Romagosa *et al.*, 2003). No entanto é crescente o número de evidências indicando que falhas no manejo destas espécies reduzem seu desempenho reprodutivo (Dabrowsky *et al.*, 2003), havendo uma enorme carência de informações sobre o manejo correto dos reprodutores ao longo de todo o ciclo reprodutivo e durante a desova induzida.

Neste contexto, muitos pontos permanecem desconhecidos e o objetivo deste trabalho foi esclarecer algumas destas questões, tais como: o período reprodutivo pode ser afetado por condições inadequadas de manejo? Qual é o modo e sistema de produção ideal para matrizes? O manejo ao longo do ano pode afetar a qualidade quantidade dos ovos formados? O desenvolvimento dos ovários pode ser afetado pelo manejo aplicado aos reprodutores? Se sim, em quais fases do ano? Para obter se as respostas para todas estas perguntas primeiramente deve se conhecer melhor o efeito das práticas de manejo sobre a maturação ovariana dos peixes, como também, analisar as fases de desenvolvimento ovocitário que ocorrem ao longo do ano.

O curimatá, *Prochilodus lineatus*, é nativo das regiões sul e sudeste do Brasil, peixe de fundo que revira sedimentos, muito sensível à qualidade da água (Camargo e Martinez, 2006), tem-se destacado muito em pisciculturas sendo suas larvas usadas para alimentação de peixes carnívoros e em policultivos por aproveitar detritos e restos de ração (Castagnolli, 1992). Por ser uma espécie rústica, de baixo nível trófico e rápido crescimento é muito utilizada para pesquisas.

## **2- OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de dois tipos de sistema de produção viveiro escavado e tanque rede analisar todo desenvolvimento ovocitário de matrizes de curimatá ao longo do ano.

## **3- MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***3.1. Animais e delineamento experimental***

Quatrocentos e cinquenta espécimes de curimatá entre machos e fêmeas, com peso total (PT) médio de  $394,85 \pm 29,85$ g,  $31,48 \pm 1,03$ cm de comprimento total (CT) e, aproximadamente, 12 meses de idade, foram distribuídos aleatoriamente em dois tratamentos no dia 2 de abril de 2009 nas dependências do Centro de Aqüicultura da Unesp (CAUNESP), sob cuidado do Laboratório de Reprodução de Peixes Nativos. Os tratamentos se caracterizavam pelos diferentes sistemas de criação: viveiros escavados (VE) e tanque-rede (TR). Cento e cinquenta peixes foram distribuídos em três viveiros escavados (5 x 10 x 1,5m) numa densidade inicial de 1 peixe.m<sup>2</sup> (0,27kg.m<sup>-3</sup>) ( 50 indivíduos por viveiro). Nos TRs, trezentos peixes foram distribuídos em três tanques-rede (2 x 2 x 1,5m, com abertura de malha de 2,0 cm) estocados em um viveiro

escavado (10x 20x 1,5m) numa densidade inicial de 17 peixes.m<sup>3</sup>(6,8kg.m<sup>-3</sup>) (100 peixes por tanque-rede).

### **3.2. Condições de cultivo**

Os peixes foram mantidos nestas condições por 440 dias, sendo 80 dias de aclimação às condições experimentais e 360 dias de período experimental. Durante o experimento os peixes foram alimentados com ração extrusada (28% PB), seis (06) dias na semana, duas vezes ao dia (8:00 e 17:00 horas) com o correspondente a 3% do total da biomassa, valor reajustado a cada biometria. Semanalmente foram registrados os seguintes parâmetros de qualidade de água, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura eram aferidos pelos aparelhos da Yellow Spring Incorporation modelo YSI 55 e YSI 63, transparência pelo disco de Secchi, e amônia calculada após análise por titulação. Os dados obtidos foram (VE e TR respectivamente): pH (7,7±0,45; 7,6±0,79), oxigênio dissolvido (3,77±1,6; 2,04 ±1,2 em mg.L<sup>-1</sup>), condutividade (69,34±15,94; 76,19±9,43 em µS.cm<sup>-1</sup>), transparência (68,3; 60 em cm), amônia (129,8± 80,8; 248,5± 119,0 em µ.L<sup>-1</sup>) e temperatura (23,22± 3,1; 23,20 ± 2,7 °C).

### **3.3. Coletas amostrais**

Durante o período experimental foram realizadas coletas a cada 60 dias. Para evitar excesso de manejo sobre os reprodutores, apenas uma das três unidades de VE e de TR eram utilizados para coletas dos animais em cada bimestre, de modo que cada unidade só era manipulada a cada seis meses. Os animais eram submetidos a um jejum de 24 horas, 30 exemplares de cada tratamento eram escolhidos aleatoriamente e acondicionados em caixas de fibra de vidro com capacidade de 1000L. Destes animais foram registrados os dados de comprimento e peso totais, posteriormente utilizados para

a determinação da variação bimestral média de comprimento e peso. Dos 30 animais, 5 fêmeas de cada tratamento foram escolhidas ao acaso para coleta dos ovários. Estas foram sacrificadas por dose letal de benzocaína (etil-aminobenzoato) na proporção de 0,15 g.L<sup>-1</sup>. Tiveram uma alíquota de sangue retirada para determinação dos esteróides e foram necropsiadas para retirada das vísceras e de amostras dos ovários e do fígado que foram utilizados para histologia e para determinação dos índices gonado, víscero e hepatossomático e fator de condição (Le Cren, 1951) por meio das seguintes fórmulas:

- *Índice gonadossomático (%)* =  $\frac{\text{massa das gônadas}(g)}{\text{massa da fêmea}(g)} \times 100$
- *Índice viscerossomático (%)* =  $\frac{\text{massa das vísceras}(g)}{\text{massa da fêmea}(g)} \times 100$
- *Índice hepatossomático (%)* =  $\frac{\text{massa do fígado}(g)}{\text{massa da fêmea}(g)} \times 100$
- *Fator de condição K* =  $\frac{\text{massa da fêmea}(g)}{\text{Comprimento total}^3}$
- *Fator de condição K1* =  $\frac{\text{massa da fêmea} - \text{massa das gônadas}(g)}{\text{Comprimento total}^3}$
- *Índice gonadal ΔK* = K – K1

Também foram determinadas as taxas de ganho de peso e sobrevivência, por meio das seguintes fórmulas:

- *Ganho de peso diário (g)* =  $\frac{\text{massa final}(g) - \text{massa inicial}(g)}{\text{período experimental}(dias)}$
- *Sobrevivência (%)* =  $\frac{n^{\text{final de peixes}}}{n^{\text{inicial de peixes}}} \times 100$

### 3.4. Avaliação da qualidade do processo de formação de ovócitos

Coleta e processamento histológico dos ovários

As amostras dos ovários foram coletadas de três porções diferentes, cranial, média e caudal, fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5%, por 24 horas. Em seguida, foram lavadas em solução tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2, para prosseguir com as técnicas histológicas de rotina para microscopia luz, inclusão em paraplast, cortes com espessura de 3µm e corados com Hematoxilina-Eosina.

Os tratamentos foram avaliados quanto à frequência de ovócitos e o volume individual das células ovogênicas nas distintas fases de desenvolvimento (crescimento primário, início de vitelogênese e vitelogênicos). Foram usados trinta campos consecutivos de ovócitos para análises morfométricas e cento e vinte ovócitos com núcleo central, sendo sessenta de cada porção (anterior, média, posterior), de cada animal para avaliação do diâmetro nuclear e celular médio realizada em microscópio Olympus BX41 com sistema de captura Olympus DP11 em objetiva de aumento de 10x durante o período pré-vitelogênico e 4x durante a maturação, com software para medição Image-Pro Plus Versão 4.1.0.0. A partir dos dados obtidos com as medidas de diâmetro, foram estimados o volume nuclear, o volume do citoplasma e o volume de cada tipo celular por animal, conforme segue:

- $\text{Volume citoplasmático} = \text{Volume celular} - \text{Volume nuclear}$

- $\text{Volume nuclear} = \frac{4}{3}\pi R^3$  onde,  $R = \frac{\text{diâmetro nuclear}}{2}$

- $\text{Volume celular} = \frac{4}{3}\pi R^3$  onde,  $R = \frac{\text{diâmetro celular}}{2}$

Desta forma, os dados obtidos permitiram estimar, dentre outros parâmetros, a evolução dos volumes nucleares, citoplasmático e celular, a proporção entre núcleo e citoplasma e o volume de cada tipo de célula ovogênica.

### ***3.5. Análise dos esteróides gonadais***

Amostras de sangue foram coletadas por punção de vasos caudais. Após centrifugação, o plasma foi retirado e armazenado em ultra-freezer à -80°C, para análise dos hormônios esteróides (estradiol, 17 $\alpha$  OH progesterona), utilizando-se kits comerciais Interkit de imunensaio ELISA, e o software Soft Max para calcular os valores de absorbância e criar a curva padrão. O procedimento foi realizado de acordo com base nas instruções do fabricante.

### ***3.6. Análise estatística***

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos. As pressuposições das análises de variância foram testadas e, em caso de efeito significativo para os tratamentos, aplicou-se o teste t no programa computacional SAS 9.1 (Statistical Analysis Software, 2004).

## 4- RESULTADOS

### 4.1. Desenvolvimento ovocitário

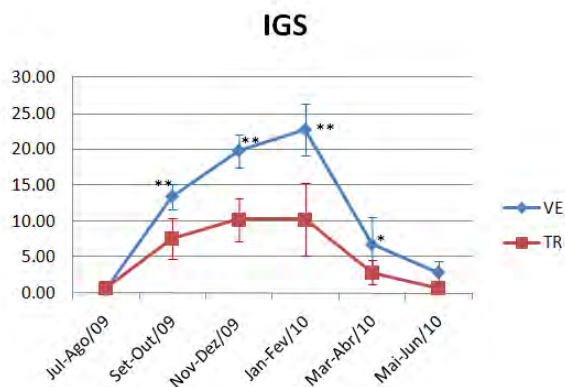


Figura 1. Médias bimestrais dos valores do Índice Gonadosomático das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Em VE, os valores de IGS aumentaram progressivamente desde a primeira (jul-ago/09) até a quarta coleta (jan-fev/10), quando atingiram pico (representando cerca de 20% da massa corporal) (Figura 1). Na quinta coleta (mar-abr/10) os valores diminuíram para aproximadamente 5%, revelando que entre a quarta e a quinta coleta se encerrou a época reprodutiva das fêmeas deste tratamento, tendo início o processo de regressão ovariana (Figuras 1, 5 e 6). Em TR os valores de IGS aumentaram apenas da primeira para a segunda coleta (ago-set/09) mantendo se entre 5-8% até jan-fev/10, e reduzindo para aproximadamente 2% na última coleta (mar-abr/10).



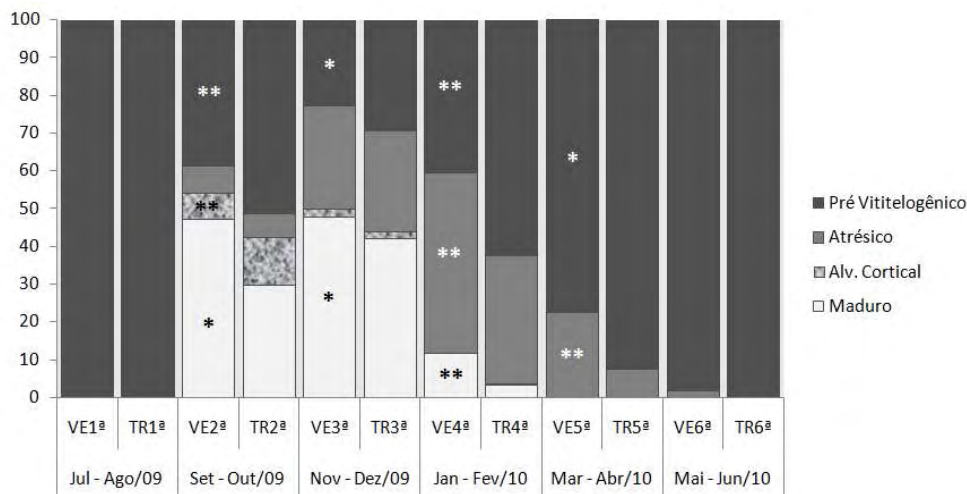


Figura 2. Frequência percentual dos diferentes tipos de ovócitos encontrados em cada coleta para as fêmeas de VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Com base nas análises de frequência dos tipos de ovócitos (Figura 2), no início do experimento (jul-ago/09) os animais de ambos os tratamentos apresentaram 100% dos ovócitos na fase pré-vitelogênica. No VE, o percentual de ovócitos pré-vitelogênicos na segunda coleta reduziu para cerca de 40% e se manteve neste patamar até o final do experimento (jan-fev/10). Em TR, o percentual de ovócitos pré-vitelogênicos foi bastante instável nas demais coletas, oscilando entre 30 e 60%. Em ambos os tratamentos (VE e TR), os ovócitos alvéolos corticais e vitelogênicos surgiram na segunda coleta (set-out/09), e os alvéolos corticais ocorreram apenas de setembro até dezembro (segunda e terceira coletas). No VE, a frequência mais alta de ovócitos vitelogênicos ocorreu já na segunda coleta (~50%) e reduziu gradativamente ao longo do ano, até atingir níveis próximos de zero em jan- fev/10. No TR, a frequência destes ovócitos oscilou ao longo do ano, de modo que, na segunda coleta (set-out/09), estes valores eram aproximadamente 30%, atingindo pico na quarta coleta (jan-fev/10), em torno de 40%, e reduzindo novamente para ~5% na última coleta. Com relação aos ovócitos vitelogênicos atrésicos, no VE, a frequência destes ovócitos elevou-se gradativa e acentuadamente ao longo do ciclo reprodutivo atingindo pico em

~60% na quarta coleta (jan-fev/10). Em TR, a frequência destes ovócitos foi bem mais estável ao longo do ano, mantendo-se aproximadamente em 30%. Na quarta coleta, estes valores foram significativamente mais baixos aos de VE no mesmo período.

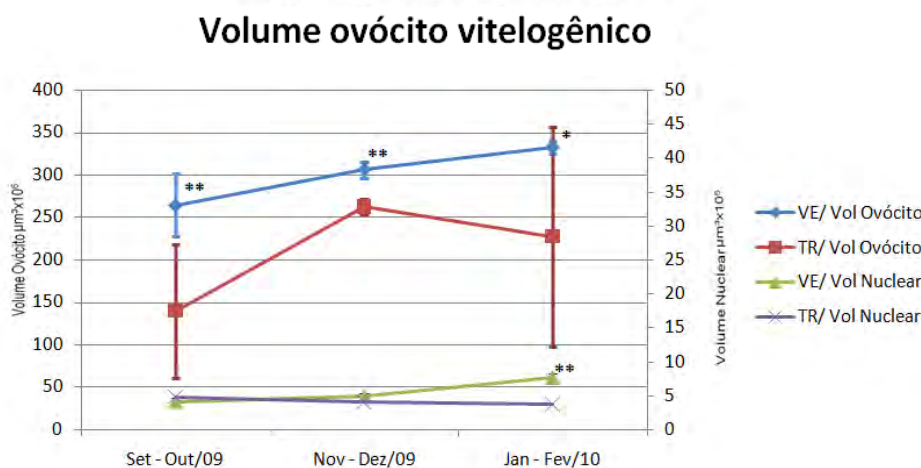


Figura 3. Médias bimestrais do volume dos ovócitos vitelogênicos das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Os ovócitos vitelogênicos surgiram em ambos os tratamentos (VE e TR) apenas na segunda coleta (set-out/09). Neste período, no VE, o volume médio dos ovócitos vitelogênicos for aproximadamente  $264 \pm 36.7 \mu\text{m}^3 \times 10^6$  e, no TR, os valores foram significativamente inferiores  $139 \pm 78.8 \mu\text{m}^3 \times 10^6$ . A média do volume dos ovócitos vitelogênicos, no VE, continuou aumentando até a quarta coleta (jan-fev/10), e permaneceu significativamente maior do que a de TR, em todo período (Figura 3). Em TR, a média dos volumes dos ovócitos aumentou da segunda para a terceira coleta, no entanto reduziu da terceira para a quarta coleta (entre os bimestres de nov-dez/09 e jan-fev/10). O volume nuclear destas células foi muito próximo entre os tratamentos ao longo de todo período, porém foram significativamente maiores no VE do que no TR, na última coleta (jan-fev/10) (figura 3).

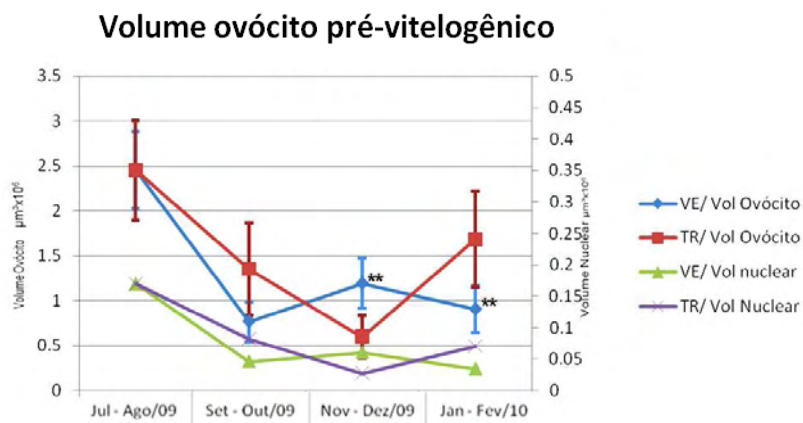
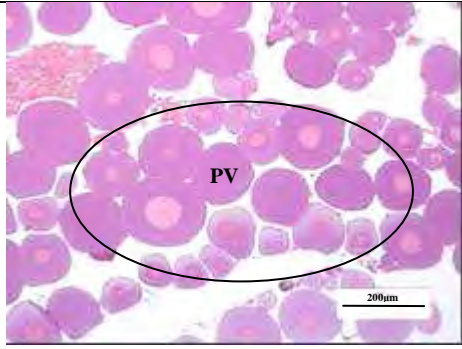
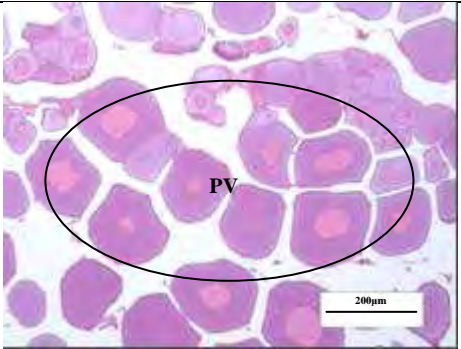
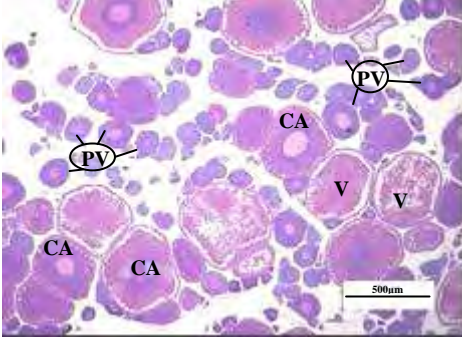
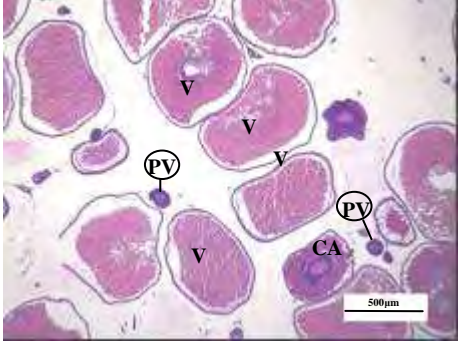
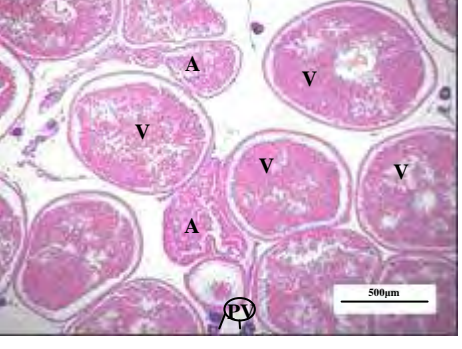
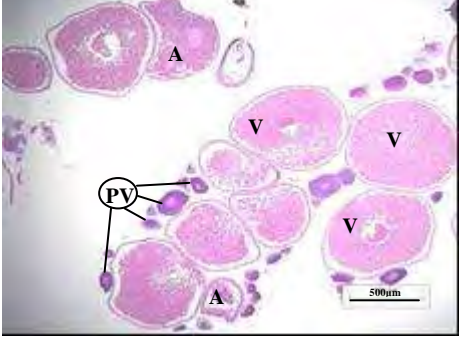
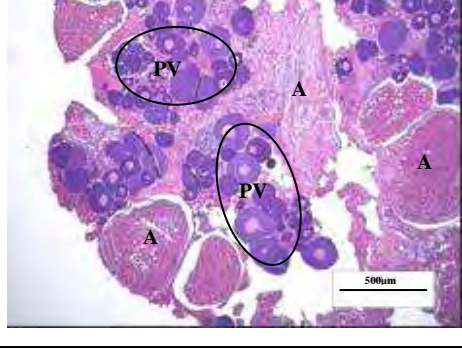
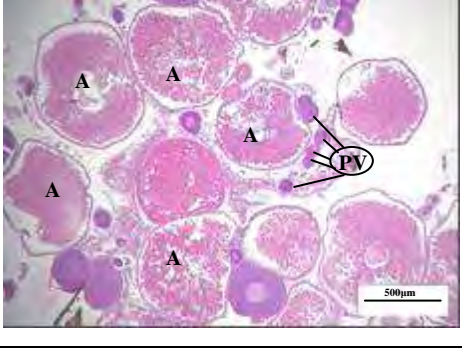


Figura 4. Médias bimestrais do volume dos ovócitos pré-vitelogênicos das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Em ambos os tratamentos o volume máximo dos ovócitos pré-vitelogênicos foi observado na primeira coleta (jul-ago) ainda nos meses de inverno. Em ambos os tratamentos, os volumes destes ovócitos reduziram no bimestre seguinte (set-out/09), porém de forma mais acentuada em VE. Em nov-dez/09, o perfil do volume dos ovócitos pré-vitelogênicos inverteu-se no VE e estas células se tornaram significativamente mais volumosas do que no TR. Entre nov-dez/09 e jan-fev/10, o perfil do volume dos ovócitos inverteu-se novamente, e o volume dos ovócitos aumentou no TR, e é significativamente maior do que os de VE, os quais apresentaram redução em relação ao bimestre anterior (Figura 4). O núcleo dos ovócitos pré-vitelogênicos acompanhou as mudanças de volume das células. Entre os dois tratamentos não foram encontradas diferenças significativas nos volumes nucleares, ao longo de todo o período (Figura 4).

	Tanque rede - TR	Viveiro escavado - VE
1 <sup>a</sup> (Jul- Ago/09) 10x		
2 <sup>a</sup> (Set- Out/09) 4x		
3 <sup>a</sup> (Nov- Dez/09) 4x		
4 <sup>a</sup> (Jan- Fev/10) 4x		

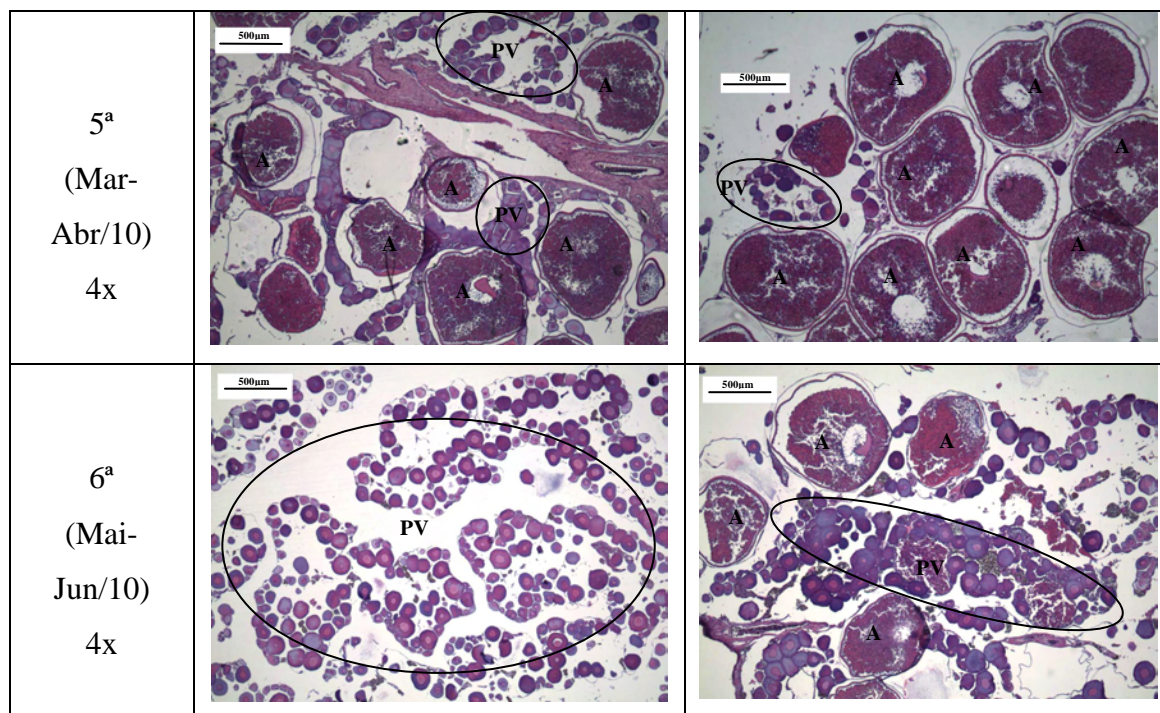


Figura 5. Histologia dos ovários nos bimestres ao longo do ano nos dois tratamentos, corados com Hematoxilina-Eosina. Demonstrando ovócitos pré-vitelogênicos (PV) indicados por linhas ou circulos, alvéolo cortical (AC), vitelogênicos (V), atresicos (A)

A Figura 5 ilustra as características histológicas dos ovários em cada fase. Na primeira coleta foi possível observar que os ovócitos pré-vitelogênicos do VE eram, em média, maiores do que aqueles em TR, enquanto que, em TR, estes ovócitos eram aparentemente mais numerosos do que em VE, provavelmente devido ao seu menor volume ocupando menor espaço. Na segunda coleta, enquanto nos ovários das fêmeas de VE houve um predomínio de ovócitos vitelogênicos e alvéolos-corticais, no TR a maior parte dos ovócitos ainda estava em fase pré-vitelogênica. Apenas na terceira coleta, os animais em TR apresentaram maior percentual de ovócitos vitelogênicos (Figura 5). Na quarta coleta, ambos os tratamentos já apresentavam intenso processo de reabsorção ovocitária. No entanto este processo estava mais avançado no TR, onde houve um maior percentual de ovócitos vitelogênicos, e ovócitos em processo de atresia (Figura 5).

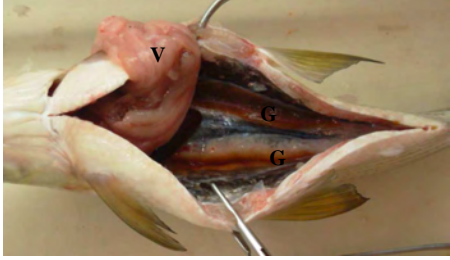
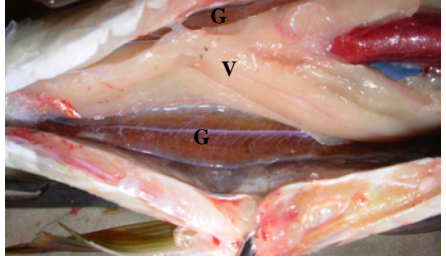

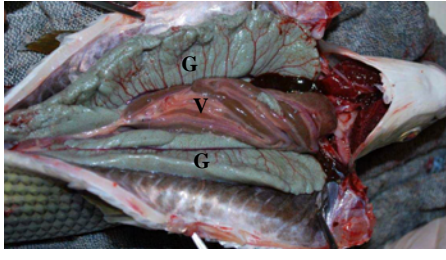

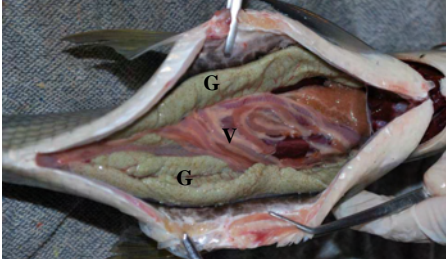
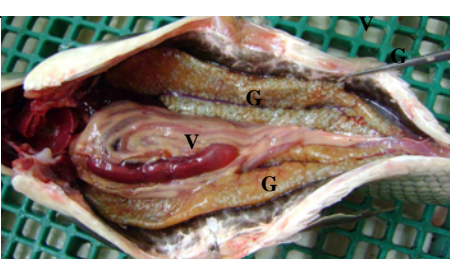
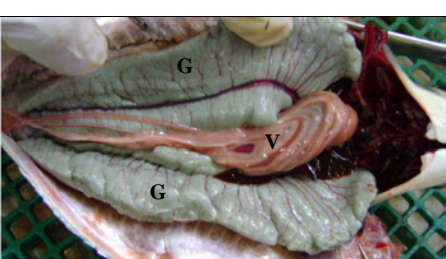
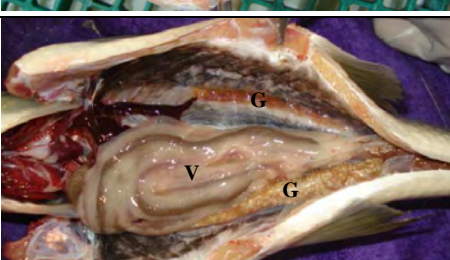


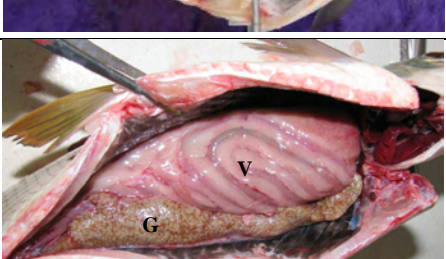
Coletas	Tanque rede - TR	Viveiro Escavado - VE
1 <sup>a</sup> (Jul-Ago/09)		
2 <sup>a</sup> (Set-Out/09)		
3 <sup>a</sup> (Nov-Dez/09)		
4 <sup>a</sup> (Jan-Fev/10)		
5 <sup>a</sup> (Mar-Abr/10)		
6 <sup>a</sup> (Mai-Jun/10)		

Figura 6. Fotos dos ovários nos distintos bimestres ao longo do ano nos dois tratamentos, mostrando as vísceras (V) e as gônadas (G).

A figura 6 ilustra o aspecto externo dos ovários mostrando nitidamente as diferenças no processo de desenvolvimento ovocitário entre os dois tratamentos. A diferença mais notável é na quarta coleta, quando os ovários de VE apresentam IGS máximo e ocupa grande parte da cavidade celomática. No mesmo período, em TR, os ovócitos estão flácidos e hemorrágicos, características típicas de ovários em regressão. Na quinta coleta, os ovários de TR já se apresentam reduzidos, praticamente regredidos, enquanto que, no VE, os ovários ainda possuem um volume considerável, com características de ovários em regressão. Na sexta coleta os ovários de TR se apresentam no menor tamanho em estado de repouso, no VE o processo de regressão está praticamente terminado macroscopicamente. No entanto, o que mais chama atenção neste período é a notória diferença do volume visceral entre os tratamentos, sendo muito mais robustas as vísceras e a gordura visceral de VE.

#### 4.2. Esteróides gonadais

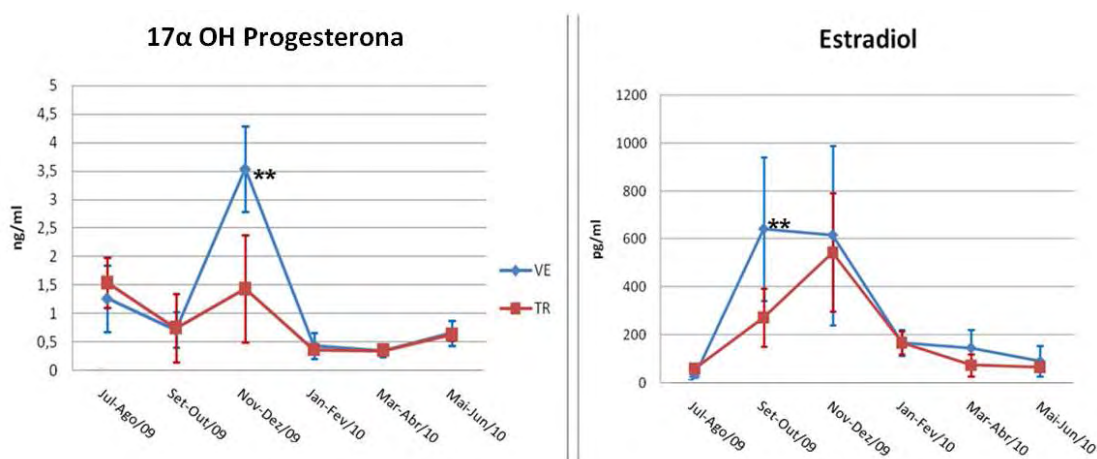


Figura 7. Concentração plasmática média dos esteróides gonadais ao longo das coletas nos dois tratamentos. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Os perfis de ambos os hormônios esteróides apresentaram trajetórias similares ao longo do ciclo reprodutivo, porém, com intensidades de elevações distintas em momentos-chave deste processo. Os níveis de estradiol se elevam no TR e VE da primeira para a segunda coleta (set-out/09), porém no VE os valores foram 3 vezes mais elevados (Figura 7). Da segunda para a terceira coleta, os valores de estradiol de VE se estabilizaram e foram ligeiramente mais elevados do que aqueles de TR, que atingiram pico neste bimestre (nov-dez). Após esta coleta, os valores diminuíram de forma muito similar entre os tratamentos até mai-jun/10.

A concentração plasmática de 17-alfa-hidroxiprogesterona apresentou redução em ambos tratamentos da primeira para a segunda coleta. Em VE a concentração de 7-alfa-hidroxiprogesterona atingiu pico em nov-dez/09 e foram três vezes mais elevados do que os valores para TR, que também se elevaram no período, mas muito moderadamente, mantendo os mesmos níveis da primeira coleta (jul-ago/09). Em jan-fev/10 as concentrações deste hormônio em ambos os tratamentos, se reduziram para os mesmos níveis (~0,5) e se mantiveram neste patamar, com ligeiras oscilações até mai-jun/10 (Figura 7).

### ***4.3. Crescimento e peso***

Durante o período experimental a taxa de sobrevivência dos peixes mantidos em VE foi de 100% e de 95% em TR.



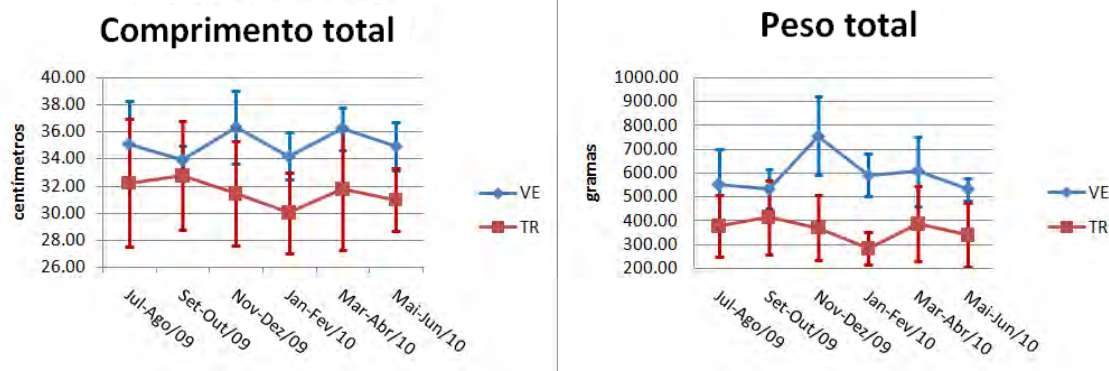


Figura 8. Médias bimestrais dos valores do Peso e Comprimento Total (CT) das fêmeas mantidas em VE e TR. Todas as médias apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos a 1%. Barras representam desvio padrão.

Com base nos valores iniciais das médias gerais de peso total (PT) e comprimento total (CT) ( $394,9 \pm 29,9$ g e  $31,5 \pm 1$ cm) os animais mantidos em viveiros escavados (VE) tiveram um ganho de massa diário de 0,64g por dia. Para os animais dos VEs, as médias de massa e comprimento total final foram de  $606 \pm 147$ g e  $36,2 \pm 1,6$ cm respectivamente, já no TR não houve ganho de massa, a média de massa final foi de  $386 \pm 157,2$ g e CT  $31,7 \pm 4,5$ cm. Observou-se diferença significativa ( $P < 0,01$ ) entre as médias de PT e CT dos dois tratamentos praticamente em todas as coletas, com exceção dos valores médios de CT no período de Jul-Ago/09 (Figura 8). O efeito do sistema sobre os peixes ficou bem nítido na primeira coleta, onde os animais do VE ganharam aproximadamente 200g em média e cresceram 4 centímetros, enquanto em TR os animais mantiveram estes parâmetros sem alteração. Da segunda coleta em diante, os animais do TR perdem massa continuamente até a quarta coleta, enquanto em VE em todas as coletas o peso se manteve acima ou igual ao início do experimento (Figura 1). Dois outros dados chamam atenção, a época reprodutiva, no VE, os animais apresentaram aumento pronunciado de massa devido ao elevado peso dos ovários. Em TR, no mesmo período praticamente não se observa alteração. Da quarta para a quinta

coleta, em ambos os tratamentos, os animais voltaram a ganhar massa e crescer de forma similar, mas os valores inferiores são mantidos em TR (Figura 8).

#### 4.4. Fator de condição K

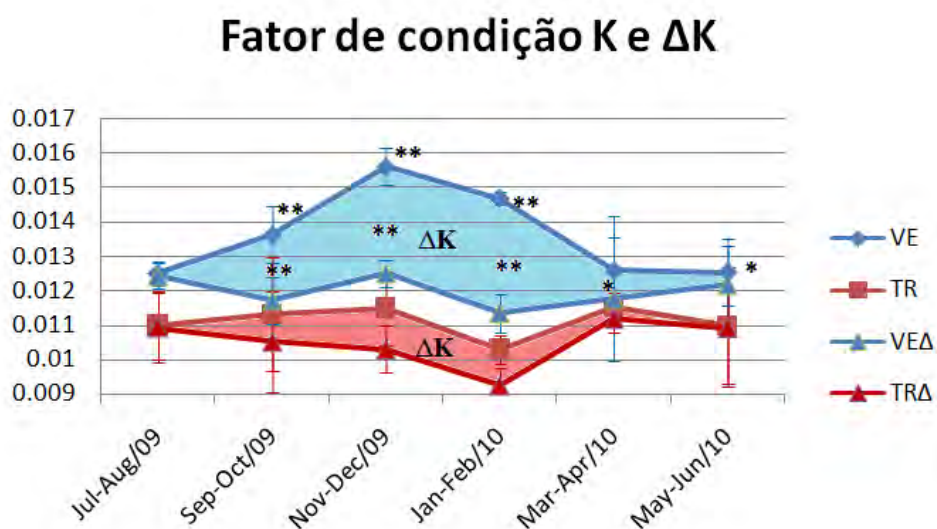


Figura 9. Médias bimestrais dos valores do Fator de Condição K e  $\Delta K$  das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos, asteriscos internos são referentes ao  $\Delta K$ .

\*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%

A média dos valores do fator de condição K (considerando peso total) e  $\Delta K$  (excluindo o peso das gônadas) foram significativamente menores ( $P < 0,01$ ) no TR do que no VE, em praticamente todas as coletas. (Figura 9). Durante as quatro primeiras coletas, o perfil das linhas de K e  $\Delta K$  de VE e TR apresentaram-se similares (Figura 9). No entanto, enquanto os valores de K de VE elevaram acentuadamente nas três primeiras coletas, como reflexo do ganho de peso dos animais no período (Figura 9), os valores de K de TR mantiveram-se estáveis, refletindo a ligeira redução de peso dos animais no mesmo período (Figura 9). Da quarta para quinta coleta, no VE, há uma redução de K e uma elevação de  $\Delta K$  em função da redução do peso dos ovários destes animais neste período (Figura 1). Em TR, neste mesmo período, os valores de K e  $\Delta K$

umentam de forma muito similar principalmente pelo fato destes animais apresentarem uma redução muito menos acentuada do IGS (Figura 9). O  $\Delta K$  (Área rachurada entre K e K1) de VE é evidente no gráfico no período entre Set-Out/09 e Jan-Fev/10, indicando o pico da época reprodutiva do grupo nos bimestres de Nov-Dez/09 e Jan-Fev/10. Já em TR, a área rachurada que representa o  $\Delta K$  é muito reduzida, o período da época de desova é praticamente o mesmo do que em VE, porém a área rachurada no gráfico é muito menor.

#### 4.5 Índice viscerossomático (IVS)

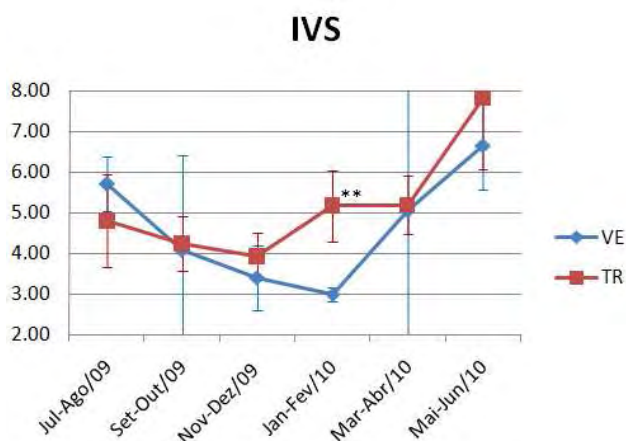


Figura 10. Médias bimestrais dos valores do Índice Viscerosomático das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

Nas primeiras duas coletas (Jul-Ago/09 e Set-Out/09) os valores médios de IVS das fêmeas de VE são mais elevados do que os de TR, no entanto, ambos apresentam uma tendência similar de redução neste período (Figura 10). Da terceira coleta em diante, os valores médios de IVS apresentam padrão oposto entre os dois tratamentos. Enquanto que no VE os valores continuam diminuindo até Jan-Fev/10, em TR os valores médios se estabilizam na coleta de Nov-Dez e comportam-se de forma oposta, atingindo pico em Jan-Fev/10, mantendo-se nos mesmos níveis na coleta seguinte (Mar-Abr/10). O comportamento dos valores médios de IVS de VE e TR também se tornam

visivelmente distintos em relação aos valores de IGS. Para os animais mantidos nos VEs, à medida que os valores médios de IGS (Figura 1) aumentavam ao longo do tempo, os valores médios de IVS (Figura 4) diminuam de forma inversamente proporcional, denotando um provável aproveitamento da gordura visceral, como fonte lipídica para a vitelogênese. Já no TR pode ser verificado que a linha dos valores médios de IVS e IGS são mais simétricas ao longo do tempo (Figuras 1 e 10).

#### 4.6. Índice hepatossomático (IHS)

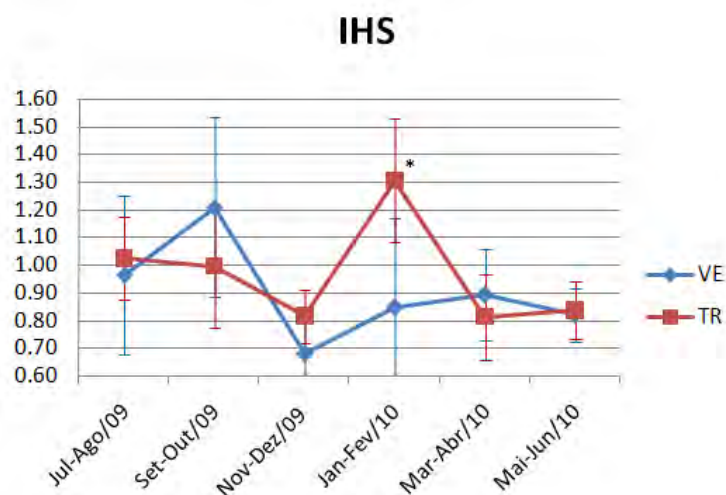


Figura 11. Médias bimestrais dos valores do Índice Hepatossomático das fêmeas mantidas em VE e TR. Médias seguidas de asterisco apresentam diferenças significativas entre os tratamentos. \*:Significativo a 5%; \*\*:Significativo a 1%. As barras mostram o desvio padrão.

As linhas dos valores médios de IHS também não se apresentaram similares ao longo do período experimental entre os tratamentos. O valor máximo de IHS em VE ocorreu na fase vitelogênica, no bimestre de set-out/09, enquanto em TR este valor ocorreu na época de desova no bimestre de jan-fev/10 (Figura 11). Na segunda coleta (set-out/09) os valores se mantiveram estáveis em TR e aumentaram cerca de 20% no VE. Da segunda (set-out/09) para a terceira coleta (nov-dez/09), foi um período marcado por intensa atividade vitelogênica, enquanto que no VE os valores de IHS

apresentavam-se moderadamente reduzidos (cerca de 50%, comparado com a coleta anterior), em TR a redução foi mais tênue (aproximadamente 20%) (Figura 11). Ao final do período vitelogênico, a relação se inverteu, entre os bimestres de Nov-Dez/09 e jan-fev/10 onde os valores médios de IHS aumentam mais de 60% em TR, e apenas 30% em VE, com diferença significativa entre os valores (Figura 11). No bimestre seguinte, os valores de IHS se aproximam em ambos os tratamentos e permanecem em torno de (0,8-0,9).

## **5- DISCUSSÃO**

### ***5.1. Considerações gerais***

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que os animais mantidos em tanques-redes (TRs) tiveram o processo de crescimento e maturação ovariana prejudicados. O efeito do sistema de criação (VE ou TR) sobre os parâmetros de desempenho zootécnico (comprimento e peso) e bem estar dos animais (Fator K) indicaram que desde a primeira coleta, ou seja, com apenas dois meses após o início do experimento, os animais em TR já apresentavam um desempenho inferior aos animais mantidos em VE, mantendo-se assim até o final do experimento. Os efeitos deletérios do TR estão em parte relacionados aos parâmetros inferiores de qualidade de água observados neste sistema. Desta forma, o objetivo inicial de propiciar água com qualidade inferior nos TRs foi atingido com sucesso, o que pode ser notado ao observarmos as características da água dos dois sistemas. Parâmetros como os níveis médios de amônia (VE: ~130 / TR: ~ 249) e de oxigênio dissolvido (VE: ~4 / TR: ~ 2) foram sempre superiores e inferiores respectivamente em TR do que em VE.

## 5.2. *Desenvolvimento ovocitário*

### *Índice gonadossomático (IGS)*

Um fator primordial de análise da qualidade do processo de desenvolvimento ovocitário é o acompanhamento do perfil anual do Índice gonadossomático (IGS), o qual demonstra o percentual em peso ocupado pelas gônadas no peso total dos animais (Vazzoler, 1996). Os dados de IGS são frequentemente utilizados para se estabelecer a época de desova, a qual ocorre no pico destes valores (Vazzoler, 1996; Batlouni *et al.*, 2006).

As matrizes mantidas nos TRs não apresentaram um pico de IGS, mas sim uma tênue elevação ao longo do ano. Além disso, o valor máximo de IGS no TR (~10) foi apenas metade daquele em VE (~20). Desta forma, considerando-se apenas os valores de IGS não se pode atribuir às fêmeas de TR uma época de desova, a qual só pôde ser estabelecida com auxílio das análises histológicas. A ausência de uma elevação gradativa ao longo do ano e um pico de IGS na época de maturação em TR são fenômenos extremamente marcantes e ainda não descritos em ciclos reprodutivos de espécies reofílicas nativas em cativeiro. Este fenômeno refletiu claramente a incapacidade das fêmeas de TR de maturar seus ovócitos adequadamente.

### *Frequência percentual dos ovócitos*

As análises histológicas não revelaram diferentes proporções de ovócitos em atresia na fase pré-vitelogênica e alvéolo cortical entre as fêmeas de VE e TR. Com relação aos ovócitos atrésicos maduros, estão em maior número em VE do que em TR na quarta coleta (Jan-Fev/10), período onde se inicia o processo de regressão ovariana das fêmeas dos VEs. Desta forma neste estudo, a hipótese de uma possível redução do peso ovariano, ter sido causada por um aumento percentual de células apoptóticas em TR, não foi confirmada. A morte celular programada é um fenômeno que ocorre em

caráter fisiológico em todos os tecidos corporais e em todos os animais e faz parte do *turnover* fisiológico dos tecidos (Elmore, 2007). No entanto, em alguns órgãos, estas taxas podem estar aumentadas em animais submetidos a um estresse fisiológico, como mostrado em células germinativas dos camundongos (Yin *et al.*, 1997 ). Nos ovários de peixes este fenômeno é razoavelmente estudado e tem papel importantíssimo na reabsorção dos ovócitos não liberados ao final das estações reprodutivas para que um novo lote de ovócitos possa se desenvolver (Romagosa *et al.*, 2005, İşısağ e Çakıcı, 2009, Thomé *et al.*, 2009)

A análise da frequência percentual de ovócitos revelou um “atraso” no desenvolvimento ovocitário em TR. O bimestre de Set-Out (início da primavera) apresentou marcou o início do desenvolvimento ovocitário dos dois tratamentos retratando ainda mais as diferenças entre os tratamentos. O retardo na entrada de ovócitos na fase vitelogênica pode ser observado em TR onde ocorre uma proporção significativamente maior de ovócitos pré-vitelogênicos (50%) quando comparado com a frequência destes ovócitos em VE (~40%). Diferenças percentuais também foram encontradas na fase subsequente (alvéolo cortical). Este tipo de ovócito marca o início da vitelogênese na maioria dos peixes estudados, e são facilmente reconhecidos pela presença de estruturas esféricas na periferia dos ovócitos (Grier *et al.*, 2007). Em TR, pode se concluir que a transição dos ovócitos alvéolos corticais para a fase vitelogênica foi mais lenta, devido a uma proporção significativamente maior destas células em TR (~12%) do que em VE (~6%). A entrada dos ovócitos na fase vitelogênica é facilmente reconhecida pelo surgimento de grânulos de vitelo de caráter acidófilo do citoplasma (Grier *et al.*, 2007). Na segunda coleta (Set-Out/09) a proporção de ovócitos pré-vitelogênicos foi significativamente maior em VE (~50%) do que em TR (30%),

indicando que o processo vitelogênico estava mais acelerado no VE e muito mais atrasado no TR.

Outra diferença marcante na dinâmica do processo ovogênico entre os tratamentos foi que enquanto em VE a proporção de ovócitos vitelogênicos aumentava e diminuía gradativa e harmonicamente de acordo com os meses do ano e com a época de reprodução, nos TRs a proporção de ovócitos vitelogênicos variou irregularmente ao longo do ano, revelando irregularidades no processo de crescimento secundário dos ovócitos e no processo de incorporação de vitelo entre as fêmeas deste grupo.

#### *Volume ovocitário/ovócitos vitelogênicos*

Os baixos valores de IGS de TR, ao longo do período experimental, e a ausência de um pico na época de desova podem, em grande, parte ser explicados pelos reduzidos valores nos volumes dos ovócitos vitelogênicos dos peixes deste tratamento. A análise simultânea dos valores de IGS e dos volumes dos ovócitos vitelogênicos confirma estes dados. Em VE, o IGS e o volume dos ovócitos vitelogênicos aumentam sequencialmente da segunda para a quarta coleta e o pico de IGS ocorre no mesmo período em que os ovócitos atingiram seu maior volume, ou seja, em Jan-Fev/10. No entanto, para os animais mantidos em TR, o volume máximo dos ovócitos é alcançado um bimestre antes, em Nov-Dez/09, revelando incapacidade dos ovócitos destes animais se desenvolverem da mesma forma que ocorreu em VE. Em TR o volume dos ovócitos se mantém estável entre Nov-Dez e Jan-Fev (época de desova), e a incapacidade destes ovócitos de acumular mais vitelo leva a uma ligeira queda nos valores de IGS no período. O aumento gradativo do IGS (Zaniboni-Filho e Weingartner 2007) é amplamente conhecido em diversas espécies reofílicas nativas, no entanto, conhecimentos específicos sobre a dinâmica do desenvolvimento do volume dos



ovócitos em condições distintas são muito escassos, tanto em ambiente natural como em cativeiro. Desta forma, este trabalho mostra que a redução do IGS em matrizes de peixes reofílicos em cativeiro pode ser causada por reduções no volume dos ovócitos (Honji *et al.*, 2009).

#### *Volume ovocitário/ovócitos pré-vitelogênicos*

Com relação ao volume dos ovócitos pré-vitelogênicos, os resultados mostraram que o volume destas células não foram responsáveis pelas diferenças nos valores de IGS entre os dois tratamentos. As diferenças nos volumes destas células refletiram apenas a dinâmica do desenvolvimento ovocitário inicial e o recrutamento de ovócitos imaturos para a fase vitelogênica. Nas fêmeas de VE, observa-se uma acentuada redução nas médias dos volumes da primeira para a segunda coleta, indicando a entrada dos ovócitos destes animais na fase vitelogênica, ou seja, permanecem como ovócitos pré-vitelogênicos apenas aqueles de menor diâmetro, que serão possivelmente de reserva para o próximo ano. No caso dos TRs, a redução das médias dos volumes foi bem mais lento como reflexo das taxas inferiores de síntese e incorporação de vitelo. Só na terceira coleta, os ovócitos pré-vitelogênicos atingiram os menores valores ao longo do período experimental, provavelmente por recrutamento tardio (dos pré-vitelogênicos de maior volume para a fase vitelogênica). Infelizmente muito pouco se sabe sobre a cinética de ovogônias e do desenvolvimento inicial dos ovócitos em peixes (Lubzens *et al.*, 2010). Com relação aos peixes reofílicos, absolutamente nada se sabe sobre este processo, de modo que este estudo revela que a dinâmica do desenvolvimento nesta fase, que é independente de gonadotrofinas (Nagahama e Yamashita, 2008, Mylonas *et al.*, 2010), é indiretamente afetada pelo atraso no início do recrutamento dos ovócitos

para a fase vitelogênica, a qual é dependente de gonadotrofinas e esteróides gonadais, mais especificamente o estradiol (Nagahama e Yamashita, 2008).

### **5.3. Esteróides gonadais**

#### *Estradiol*

Os níveis significativamente mais baixos de estradiol em setembro (início da primavera) em TR explicam o retardo no recrutamento de ovócitos pre-vitelogênicos para a fase vitelogênica; o volume significativamente menor de seus ovócitos vitelogênicos neste período; e conseqüentemente os menores valores de IGS das fêmeas deste tratamento no início da primavera (set-out/09). O estradiol (substância indutora da vitelogênese) produzido nas células foliculares e da teca, via estimulação por FSH, é responsável pela estimulação da síntese endógena (próprio ovócito) e exógena de vitelo (fígado). O estradiol induz os hepatócitos a produzirem vitelogenina que volta aos ovócitos (via corrente sanguínea) e é convertido em vitelo (Lubzens *et al.*, 2010). Em TR, os valores entre a primeira e segunda coleta apresentaram uma elevação muito tênue, que conseqüentemente gerou um início de vitelogênese menos intenso, e mais tardio neste grupo. Os animais de TR demoraram um bimestre a mais para atingirem pico de estradiol quando comparados com os animais de VE. A vitelogênese em TR também foi aparentemente orquestrada pelos níveis de estradiol. Só em nov-dez/09 (pico de estradiol), os ovócitos vitelogênicos em TR atingem a proporção e volume máximo dentro dos ovários. As diferenças são mais evidentes quando se considera o período de ganho de volume dos ovócitos vitelogênicos. Em VE estes permanecem aumentando de volume de set-fev (ao longo de três bimestres), enquanto em TR os ovócitos vitelogênicos aumentam de volume por um bimestre apenas (entre set-out e

nov-dez/09), o qual é reduzido em seguida, entre novembro e fevereiro (auge da estação reprodutiva).

#### *17-alfa-hidroxiprogesterona*

A 17-alfa-hidroxiprogesterona é um esteróide relacionado com a maturação final e ovulação dos ovócitos, ou seja, são substâncias que tem um papel crucial após a fase vitelogênica, e estão relacionados com a desova (Guraya, 1986; Nagahama e Yamashita, 2008) . A 17-alfa-hidroxiprogesterona é precursora do esteróide 17,20 $\beta$ -dihidroxi-4-pregnen-3-ona (DHP) principal e mais potente substância indutora da maturação final e ovulação (Nagahama e Yamashita, 2008). Como é amplamente sabido, o processo de maturação final e ovulação não ocorre em cativeiro, e só é atingido mediante tratamentos hormonais (Von Ihering e Azevedo, 1936; Goetz, 1983; Nagahama e Yamashita, 2008; Mylonas *et al.*, 2010). Mesmo assim, os níveis do DHP e de seus precursores tem sido mostrado serem excelentes parâmetros para avaliação do sucesso da ovulação e da qualidade dos ovócitos e das larvas em peixe (Dabrowski *et al.*, 2003; Honji, 2007; Lister e Van Der Kraak, 2008). Neste estudo o pico destes hormônios foi três vezes mais elevado em VE do que em TR, sugerindo uma provável redução no desempenho reprodutivo dos peixes de TR.

Trabalhos com espécies reofílicas indicam que baixos níveis dos hormônios esteróides podem ser causados por agentes estressores externos como barramentos de rios em ambientes naturais (Honji, 2007) e condições inadequadas de manejo no momento da desova, como indisponibilidade de oxigênio (Dabrowsky *et al.*, 2003). Desta forma, os baixos níveis de oxigênio, os elevados índices de amônia, e o próprio adensamento no tanque-rede seguramente estão envolvidos com a redução dos níveis

dos esteróides. O objetivo deste trabalho não foi avaliar o papel isolado de cada uma destas variáveis, mas seria muito interessante em futuras abordagens, conhecer os efeitos deletérios em separado de cada uma, sobretudo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas.

#### **5.4. Sistemas de produção**

Apesar de nosso foco não ter sido avaliar o desempenho zootécnico dos curimatás em distintos sistemas de produção, e sim o desenvolvimento gonadal, cabe aqui uma breve discussão das características dos sistemas empregados e o porquê de sua escolha. O desempenho zootécnico dos peixes em distintos sistemas de produção são muito bem conhecidos e estudados na fase de engorda, principalmente pela importância econômica direta do tema (Vera-Calderón e Ferreira, 2004). A manutenção de reprodutores em viveiros escavados de 1,5 m de profundidade e de 200-300 m<sup>2</sup> de área tem se mostrado ao longo de décadas ser uma prática muito apropriada para manutenção de reprodutores de espécies reofílicas em densidades de 1-8 m<sup>2</sup> por peixe (Cecarelli *et al.*, 2000). O sistema de produção em tanques-rede é utilizado apenas para as fases de engorda, não sendo recomendado para reprodutores devido as elevadas densidades de estocagem utilizadas para o alto rendimento do sistema (Ceccarelli *et al.*, 2000). As densidades de estocagem nos tanques-rede são normalmente calculadas por unidade de volume e atingem valores altíssimos, normalmente, em condições de engorda como no caso das tilápias que podem atingir 200 kg.m<sup>-3</sup> e no pacu, *Piaractus mesopotamicos*, é de 30 a 40 kg.m<sup>-3</sup> (Ceccarelli *et al.*, 2000). Desta forma, a densidade de 6,8kg.m<sup>-3</sup> (17 peixes.m<sup>-2</sup>) aplicadas para curimatá no experimento estiveram muito abaixo daquelas aplicadas nas fases de engorda.

Como dito anteriormente, dada a somatória de variáveis deletérias deste trabalho não se pode atribuir a esta ou aquela variável a responsabilidade pelos efeitos deletérios em TR, no entanto não se pode deixar de ressaltar o papel da densidade de estocagem.

É sabido que altas densidades demandam uma maior necessidade de recursos externos, o que leva aos conceitos de sistema intensivo (Conte, 2004). Além disso, o termo densidade deve ser interpretado não como o número de animais por área, na produção de peixes, mas sim como número de peixes por unidade tridimensional, influenciada pela quantidade, peso dos peixes, volume de água estática e biomassa por volume. A combinação destes itens influencia a qualidade da água e conseqüentemente bem estar dos animais (Beleau, 1990; Conte, 2004). O sistema TR foi criado para altas densidades de peixes em represas onde não podem ser construídos viveiros e com grandes volumes de água e são utilizados para as fases de engorda em altas densidades (Cecarelli *et al.*, 2000; Vera-Calderón e Ferreira, 2004). Desta forma, este trabalho confirma, com dados científicos que o conhecimento empírico pré existente que indicava que viveiros escavados em baixas densidades de estocagem são apropriados para a manutenção de reprodutores de peixes reofílicos, e os tanques-rede, não. Segundo Stone e McNulty (2003), possíveis explicações para a redução do crescimento em altas densidades são a diminuição da disponibilidade individual de alimento e a presença de metabólitos específicos da espécie.

### ***5.5. Crescimento, peso e fator K***

Com relação às características físicas dos sistemas de produção empregados pode-se afirmar que os peixes encontraram condições favoráveis nos VE, e aparentemente não encontraram as condições adequadas em TR durante todo período experimental, evidenciado pelos valores significativamente inferiores do fator K. O curimatá é uma espécie iliófaga que procura seu alimento no fundo dos viveiros

(Moraes *et al.*, 1997). Nos TRs, os peixes tiveram acesso ao fundo, pois os tanques estavam encostados no fundo, no entanto, este contato seguramente foi muito mais limitado do que em VE. Estes resultados estão de acordo com considerações prévias postuladas por Urbinati e Carneiro, 2004. De acordo com estes autores, é necessário considerar as condições fisiológicas em situações naturais, para procurar adequá-las às condições químicas, físicas e biológicas impostas pelos sistemas intensivos de criação, de modo que os animais não fiquem submetidos a condições desfavoráveis, com prejuízo no desempenho e produção. Em condições desfavoráveis, o organismo do peixe entra em um processo de exaustão da capacidade adaptativa, contínua perda da homeostase fisiológica, levando-o à redução da capacidade reprodutiva, crescimento e imunodeficiência (Urbinati e Carneiro, 2004). Peixes saudáveis consomem mais alimentos que peixes estressados ou doentes (Ono, 1998).

Os dados individuais e gerais de crescimento e peso obtidos neste trabalho mostraram valores muito inferiores em TR quando comparados com VE. Estes dados são similares aos de outros peixes reofílicos estudados em cativeiro, e parecem indicar que o sistema TR não é de fato uma boa opção para reprodutores de peixes reofílicos nativos. Frascá-Scorvo *et al.* (2008) observaram maior peso médio de *Pseudoplatystoma corruscans* criados em viveiros escavados quando comparados aos animais criados em tanque-rede em diferentes densidades. De acordo com Scorvo Filho *et al.* (2008), *Pseudoplatystoma corruscans* criados em tanque-redes apresentaram, quando comparados com aqueles criados em viveiros escavados, valores menores de crescimento, tanto em peso como em comprimento. O tambaqui *Colossoma macropomum*, cultivado no sistema semi-intensivo, alcançou peso médio final três vezes maior que no sistema intensivo. Neste mesmo estudo, o matrinxã *Brycon*

*amazonicus*, entretanto, não mostrou diferença de peso médio/peixe, quando cultivado em ambos os sistemas de cultivo (Arbeláez-Rojas *et al.*, 2002).

Os dados sugerem fortemente uma separação dos paradigmas utilizados nas fases de engorda e na manutenção de reprodutores de peixes reofílicos nativos. Em busca da melhor produção, aproveitamento de tanques, muitos produtores não consideram uma condição adequada para reprodutores, enquanto a máxima produção é atingida em altas densidades, o melhor desenvolvimento individual é atingido em menores densidades (Zonneveld e Fadholi, 1991). Neste estudo ficaram evidentes as relações entre o bem estar do animal (índice K) e os parâmetros de desenvolvimento gonadal e qualidade dos ovócitos. As variações sazonais, disponibilidade de alimento, parasitismo, estágio de maturação gonadal, atuam diretamente sobre o fator de condição (K) (Le Cren, 1951; Braga, 1986). Os resultados observados nos peixes de VE foram similares aos obtidos por Esper (1990) e Romagosa (1998), nos quais a variação de K em relação aos diversos estágios de maturação das gônadas atingiu o valor máximo quando maduro (nov-dez/09).

Os reflexos do bem estar geral dos animais (índice K) sobre a qualidade dos gametas são observados também no tamanho dos ovócitos. Em geral, as fêmeas maiores produzem ovos grandes, que dão origem a descendentes, que se acredita ter uma vantagem ecológica sobre os ovos de menores (Schreck *et al.*, 2001). Estressores ambientais podem afetar a fecundidade, a qualidade dos gametas e o crescimento levando à produção de descendentes que já estão em desvantagem devido ao seu menor tamanho. O número de ovos maduros que a fêmea produz também é baseado na qualidade ambiental. Uma fêmea produz ovogônias durante fases iniciais de desenvolvimento e, em seguida, durante o processo de ovogênese estabelece o número

real destes que vai começar a amadurecer e que será ovulado, com o remanescente a ser reabsorvido através atresia (Schreck *et al.*, 2001). Neste trabalho os ovócitos vitelogênicos das fêmeas no VE foram significativamente maiores do que no TR atingindo um volume máximo médio 40% maior do que no TR. Como aqui demonstrado esta diferença de volume se deu a um conteúdo maior em vitelo, proporcionando aos embriões maiores reservas e maiores chances teóricas de sobrevivência. Sabe-se que peixes sob condições desfavoráveis durante toda fase vitelogênica apresentam ligeiro efeito sobre as taxas de crescimento, desovas precoces, heterogeneidade no peso e tamanho dos ovos, e menor taxa de sobrevivência das larvas (Campbell *et al.*, 1994; Sanchez *et al.*, 1998). Desta forma, seria muito interessante testar, em futuras abordagens, o desempenho reprodutivo das fêmeas de peixes reofílicos mantidas nos dois distintos sistemas, bem como as taxas de crescimento e sobrevivência de suas larvas.

### **5.6. Índices viscerossomático (IVS) e hepatossomático (IHS)**

Barbieri *et al.* (2000) observaram que o IGS e o IHS (Índice hepatossomático) mostram valores crescentes nas fases a partir de maturação gonadal. Essa condição sugere que a diminuição relativa peso do fígado está relacionado ao processo de vitelogênese. Os resultados obtidos no VE nas curvas de IGS, IVS e IHS, as alterações no volume dos órgãos devem ser associados com o transporte das reservas, absorção e síntese pelo ovário. Nas figuras 1, 6, 10 e 11 verifica-se a mobilidade de volume das vísceras e fígado durante o desenvolvimento ovariano. Essas reservas orgânicas que são sintetizadas também foram observadas por Haefner e Spaargaren, (1993). Por outro lado, o IHS e o IVS isolados não podem ser utilizados como indicadores do período



reprodutivo, pois podem variar de acordo com as condições de cultivo (Power, 2000; Querol *et al.*, 2002). Em situações adequadas, como pode ser visto no VE, as reservas lipídicas do fígado e vísceras formam uma curva inversamente proporcional ao IGS também observado por Yoneda *et al.* (1998) com *Lophiomus setigerus*, Romagosa (2003) com *Pseudoplatystoma fasciatum* e Sheridan (1994). Já no TR, o IVS e IHS não fazem associação com IGS. Esse fenômeno gera controvérsias entre diversos autores. Uma justificativa é que animais coletados em ambiente natural têm um gasto de energia, seja com a busca por alimento, a migração, o estresse pela competição, se a espécie é predadora. Nesses casos, se a reserva lipídica não for suficiente para a formação das gônadas, o animal pode até utilizar tecido muscular (Wiegand, 1996). Como os índices são calculados pela relação peso do órgão pelo peso do animal, os resultados podem variar muito quando não se conhece as condições do animal. Em situações controladas, as variáveis são minimizadas, a alimentação é fornecida, competição é muito menor, não existem predadores, portanto o gasto energético é focado para a formação das gônadas (Bazzoli, 1985; Agostinho *et al.*, 1990). Como pode ser visto na figura 6, o acúmulo de gordura durante o período vitelogênico e de atresia supriu toda exigência para formação das gônadas em VE, confirmado na figura 8, pois os animais não perderam peso, situação contrária ao TR.

O período do desenvolvimento gonadal, a intensidade e a duração em que ocorre o estresse são fatores importantíssimos a serem considerados. Estes fatores podem levar a respostas completamente diferentes dependendo das estratégias reprodutivas das espécies, podendo uma fêmea escolher entre a energia para a manutenção e crescimento somático, ou energia para a reprodução. De acordo com Roff (1982), a distribuição de energia durante a reprodução pode ser usada na manutenção do peso corporal e do

ajustamento da produção de gametas ou na manutenção do número constante de ovos à custa dos tecidos somáticos. No primeiro caso, ocorre o comprometimento do desenvolvimento do ovário durante a vitelogênese, o que resulta em atresia do ovo e reabsorção subsequente. O segundo poderia acontecer quando o tecido somático é severamente afetado durante a pré-desova, mas o número e a qualidade dos ovos permanecem constantes. No caso do curimatá, a estratégia adotada parece ter sido uma mistura das duas anteriormente citadas, pois os peixes apresentaram redução nos parâmetros dos tecidos somáticos e germinativos. Além disso, a heterogeneidade nas respostas fisiológicas de todos os parâmetros analisados foram muito maiores entre as fêmeas do TR do que entre as do VE.

## **6- CONCLUSÃO**

Concluindo, o sistema TR na densidade de 6,8 kg de peixe por m<sup>3</sup> não é recomendado para reprodutores de curimatá por comprometer severamente seu desenvolvimento ovocitário. Os efeitos negativos deste sistema sobre o desenvolvimento ovocitário das fêmeas foram: o baixo volume dos ovócitos; a heterogeneidade na condição reprodutiva das fêmeas deste grupo; e o atraso e redução na época de desova. Boas condições de manejo nas fases que antecedem a época de desova (inverno e primavera) são garantias para a formação de ovócitos de boa qualidade, especialmente no seu conteúdo em vitelo. Os efeitos deletérios do sistema TR têm íntima associação com os níveis de esteróides gonadais, especialmente com os níveis de estradiol nas fases vitelogênicas dos ovócitos. Dada a regulação hipofisária dos níveis destes esteróides, seguramente o eixo hipotálamo hipófise-gonadas foi

afetado de alguma maneira, sendo alvo interessante para investigações em futuras abordagens.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho AA, Barbieri G, Verani JR, Hahn NS. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) no Rio Paranapanema, Porecatu. Ciência e Cultura 1990;v.42, p.711-714.
- Arbeláez-Rojas GA, Fracalossi DM, Fim JDI. Composição Corporal de Tambaqui, *Colossoma macropomum*, e Matrinxã, *Brycon cephalus*, em Sistemas de Cultivo Intensivo, em Igarapé, e Semi-Intensivo, em Viveiros1 R. Bras. Zootec. 2002; v.31, n.3, p.1059-1069.
- Barbieri G, Vermulm JRH, Giamas MTD, Teixeira-Filho AR. Campos, E. C. Biologia populacional da tilápia, *Oreochromis niloticus*, da represa de Guarapiranga, São Paulo – I. Estrutura da população, idade e crescimento. Boletim do Instituto de Pesca 2000; 26(1):1-7.
- Batlouni SR, Romagosa E, Borella MI. The reproductive cycle of male catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium. An approach addressed to aquaculture. An. Reprod. Sci. 2006; 96, 116-132.
- Bazzoli N. Biologia reprodutiva do peixe-cachorro *Acestrorhynchus lacustris* (Reinhardt, 1874) (Characidae, Acestrorhynchinae) da Represa de Três Marias, Rio São Francisco, MGDissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 1985; 149p.

- Beleau MH. High-density culture systems. In: Tucker, C.S., Robinson, E.H. (Eds.), Channel Catfish Farming Handbook. Van Nostrand Reinhold, New York 1990; pp. 85–105.
- Braga FMS. Estudo entre fator de condição e relação peso-comprimento para alguns peixes marinhos. Rev. Bras. Biol 1986; v. 2, n. 46; p. 339-346.
- Camargo MP, Martinez CBR. Biochemical and physiological biomarkers in *Prochilodus lineatus* submitted to in situ tests in an urban stream in southern Brazil. Environ. Toxicol. Pharmacol 2006;21, 61–69.
- Campbell PM, Pottinger TG, Sumpter JP. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. Biol. Reprod 1992; 47, 1140–1150.
- Castagnolli N, Cyrino J.E.P.. Desova induzida do curimatá *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). Ciência e Cultura 1980; 32(9): 1245- 1253.
- Castagnolli N, Donaldson EM. Induced ovulation and rearing of the pacu, *Colossoma mitrei*. Aquaculture 1981; 25: 275-279.
- Castagnolli N. Piscicultura de água doce. Jaboticabal: Funep, 1992.
- Ceccarelli PS, Senhorini JA, Volpato G. Dicas em piscicultura - perguntas e respostas. Botucatu: Ed. Santana 2000; 247p.
- Conte FS. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science 2004; v.86, p.205-223.
- Dabrowski K, Rinchar J, Ottobre JS, Alcantara F, Padilha P, Ciereszko A. Effect of oxygen saturation in water on reproductive performances of pacu *Piaractus brachypomus*. J World Aquacult Soc 2003; 34:441–449.

- Dias- Neto J, Saccarado, AS. O estado dos recursos pesqueiros: O estado dos recursos pesqueiros: Pesca extrativa e aquicultura. Em: Geo Brasil, Perspectivas do meio ambiente no Brasil. Brasília: Edições IBAMA, 2002; 132-147p.
- Dumont-Neto R, Pelli A, Freitas RO. Reprodução induzida do dourado (*Salminus maxillosus*, Valenciennes, 1849) na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta- Grande. Revista Unimar 1997; 19(2): 439-445.
- Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death NIEHS, Laboratory of Experimental Pathology, Research Triangle Park, North Carolina 27709, USA; Toxicol Pathol. 2007; 35(4): 495–516.
- Esper MLP. Fator de condição, desenvolvimento sexual e alimentação de *Anchoa januaria* na região da Ponta da Cruz (Baía de Paranaguá , Paraná , Brasil). Acta Biológica Paranaense 1990; 19, 135–158.
- Fenerich NA, Godinho HM, Barker JMB. Sobre a ocorrência de ovulação de *Rhamdia hilarii*, *Pimelodus maculatus* e *Salminus maxillosus* em laboratório. Ciência e Cultura 1974; 26(7): 344- 352.
- Frasca-Scorvo CMD, Baccarin AE, Vidotti RM, Romagosa E, Scorvo-Filho JD, Ayroza LMS. Influência da densidade de estocagem e dos sistemas de criação intensivo e semi-intensivo no rendimento de carcaça, na qualidade nutricional do filé e nas características organolépticas do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* 4 B. Inst. Pesca, São Paulo 2008 ;34(4): 511 – 518.
- Godinho HM, Romagosa E, Cestarolli MA, Narahara MY, Fenerich-Verani N. Reprodução induzida de curimatá, *Prochilodus scrofa*, Steind. 1881 sob condições de cultivo experimental. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte 1984; 8 (2): 113-119.

- Grier HJ, Uribe MC, Parenti LR. Interactions of Ovary and Hepatopancreas during the Reproductive Cycle of *Crangon crangon* (L.). I. Weight and Volume Relationships, *Journal of Crustacean Biology* 1993; Vol. 13, No. 3, pp. 523-531
- Goetz FW. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes; in *Fish physiology*. (eds) W S Hoar, D J Randall and E M Donaldson (New York: Academic Press) 1983; Vol IXB, 117- 170.
- Guraya SS. The cell and molecular biology of fish oogenesis. H.W. Sauer, editor. *Monographs in Developmental Biology*. New York, 1986;18: Page1- 233.
- Honji RM. Caracterização endócrina durante o ciclo reprodutivo de tabarana *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae), em três ambientes distintos: natural, impactado e cativoiro.”. Dissertação (Mestrado em Pós-graduação em Ciências (Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências - USP” 2007.
- Honji RM, Caneppele D, Hilsdorf AWS, Moreira RG. Threatened fishes of the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae). *Environmental Biology of Fishes* 2009; 85(3): 207-208.
- İşisağ ÜS, Çakici Ö. Atresia and Apoptosis in Preovulatory Follicles in the Ovary of *Danio rerio* (Zebrafish). *Turkish J. Fish. Aquatic Sci.* 2009; 9(2):205-212.
- Le Cren ED. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatis*). *Journal of Animal Ecology*, London 1951; 20: 201-219.
- Lister AL, Van Der Kraak G. An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation. *General and comparative endocrinology* 2008; 159(1):46-57.

- Lubzens E, Young G, Bobe J, Cerdà J. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *Gen. Comp. Endocrinol* 2010; 165, 367–389.
- Mylonas CC, Fostier A, Zanuy S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *Gen. Comp. Endocrinol* 2010; 165, 516–534.
- Moraes MFPG, Barbola IF, Guedes EAC. Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do “curimatá”, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do sul do Brasil. *R. Bras. Zool.* 1997; 14:169-180.
- Nagahama Y, Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish. *Develop. Growth Differ*, 2008; 50,195-219.
- Narahara MY, Basile-Martins MA, Godinho HM, Cipólli MN. Escala de maturidade, época de reprodução e influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gonadal de *Rhamdia hillarii* (VALENCIENNES, 1840). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 1988; 15 (2): 201-211.
- Narahara MY, Andrade-Talmelli EF, Kavamoto ET, Godinho HN. Reprodução induzida da Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), mantida em condições de confinamento. *Revista Bras. Zootecnia* 2002; 31(3): 1070-1075.
- Ono EA. Cultivo de peixes em tanques-rede. Campo Grande: [s.n.] 1998; 41 p.
- Power DM, Melo J, Santos CRA. The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream. *J. Fish Biol* 2000; 56, 374–387.
- Querol MVM, Querol E, Gomes NNA. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de

- Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. *Iheringia, Série Zoologia* 2002; 92(3):1-112.
- Roff DA. Reproductive strategies in flatfish: a first synthesis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1982; 39, 1686–1698.
- Romagosa E, Paiva P, Cestarolli MA. Reprodução induzida de pacu *Colossoma mitrei*, Berg., 1895, mantido em condições de cultivo intensivo. *Ciência e Cultura* 1985; 37(7): 849-875.
- Romagosa E, Paiva P, Godinho HM, Storfer EB. Desenvolvimento de ovócitos de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (*Colossoma mitrei* Berg, 1895) em condições de cultivo intensivo. *Ciência e cultura* 40 (1) 1988; 60-64.
- Romagosa E, Paiva P, Godinho HM, Guilherme MCM. Fecundidade do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887), mantido em confinamento, durante o 1o e o 2o período reprodutivo. *B. Inst. Pesca* 17 (único) 1990; 99-103.
- Romagosa E. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus*, (Günther, 1869) em cativeiro. Vale do Paraíba, São Paulo. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos 1998; 218p.
- Romagosa E, Paiva P, Andrade-Talmelli EF, Godinho HM. Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* mantidas em cativeiro. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo* 2003; v. 29, n. 2, p. 151-159.
- Romagosa E, Batlouni SR, Borella MI, Leonardo AFG. Involução dos folículos pós-ovulatórios em *Pseudoplatystoma fasciatum* (pisces, teleostei). *Inst. Pesca, São Paulo* 2005; 31(2): 129 – 135.



- Sanchez WC, Schreck CB, Fitzpatrick MS, Pereira CB. Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Biol. Reprod. 1998; 58, 439–447.
- Sato Y, Cardoso EL, Godinho AL. Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the rio São Francisco basin, Brazil. Arq. Brás. Méd. Vet. Zoot. 1996; 48(1): 55-62.
- Schreck CB, Sanchez WC, Fitzpatrick MS. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny Aquaculture 2001;197, 3–24.
- Scorvo-Filho JD, Romagosa E, Ayroza LMS, Frascá-Scorvo CMD. Desempenho produtivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829), submetidos a diferentes densidades de estocagemem dois sistemas de criação: intensivo e semi-intensivo Inst. Pesca, São Paulo 2008; 34(2): 181 – 188.
- Sheridan MA. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. Comp. Biochem. Physiol., Oxford 1994; v.1107B, p.495-508.
- Stone N, McNulty E. The effect of stocking and feeding rates on growth and production of feeder goldfish in North American. Journal of Aquaculture 2003; 65: 82–90.
- Thomé RG, Santos HB, Arantes FP, Domingos, FFT, Bazzoli N, Rizzo E. Dual roles for autophagy during follicular atresia in fish ovary. Autophagy (Georgetown, TX) 2009; v. 5, p. 117-119.
- Urbinati EC, Carneiro PCF. Práticas de manejo e estresse dos peixe em piscicultura. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Sociedade Brasileira de Aquicultura e biologia Aquática. Editora Tecart, São Paulo 2004; p. 171-193.
- Vazzoler AEAM. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática. São Paulo, CNPq/ Nupelia (UEM) 1996; 169p.

- Vera-Calderón LE, Ferreira ACM. Estudo da economia de escala na piscicultura em tanque-rede, no estado de São Paulo. *Informações Econômicas*, São Paulo, 2004; 34(1): 7-17.
- Von Ihering R, Azevedo P. A desova e a hipofiseação dos peixes. Evolução de dois Nematognathas. *Archivos do Instituto Biológico*, 1936; 7(9): 107-180.
- Wiegand MD. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Rev Fish Biol Fish* 1996; 6(3):259-286.
- Yin Y, Hawkins KL, DeWolf WC, Morgentaler A. Heat stress causes testicular germ cell apoptosis in adult mice. Division of Urology, Beth Israel Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02215, USA. *Journal of Andrology* 1997; Vol 18, Issue 2 159-165.
- Yoneda M, Tokimura M, Fujita H, Takeshita N, Takeshita K, Matsuyama S, Matsuura S. Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China Sea with a note on specialized spermatogenesis. *J. Fish Biol* 1998; 53: 164-178.
- Zaniboni-Filho E, Resende EK. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Ver. Brasil. Biol.* 1988; 48 (4): 833-844.
- Zaniboni-Filho E, Weingartner Marcos. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores (Induced breeding in migratory fishes). *Rev. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte* 2007; v.31, n.3, p.367-373.
- Zonneveld N, Fadholi R. Feed intake and growth of red tilapia at different stocking densities in ponds in Indonesia. *Aquaculture*, Amsterdam 1991; v.99, p. 83-94.

