

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 28/02/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Novas investigações sobre o desempenho reprodutivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) envolvendo variações no uso de prostaglandina $F_{2\alpha}$ exógena e no horário de indução hormonal

Rafael Tomoda Sato

Jaboticabal, São Paulo

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Novas investigações sobre o desempenho reprodutivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) envolvendo variações no uso de prostaglandina $F_{2\alpha}$ exógena e no horário de indução hormonal

Rafael Tomoda Sato

Dr. Sergio Ricardo Batlouni

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, São Paulo

2023

S253n Sato, Rafael Tomoda
Novas investigações sobre o desempenho reprodutivo de pacu
(Piaractus mesopotamicus) envolvendo variações no uso de prostaglandina
F2 exógena e no horário de indução hormonal / Rafael Tomoda Sato. –
Jaboticabal, 2023
iii, 80 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2023
Orientadora: Sergio Ricardo Batlouni
Banca examinadora: Lucas Simon Torati, Rafael Yutaka Kuradomi,
Rosicleire Verissimo Silveira, Renata Guimarães Moreira Whitton
Bibliografia

1. Prostaglandinas. 2. Melatonina. 3. Peixe desova artificial. 4.
Ovulação induzida. 5. Fotoperiodismo. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de
Aquicultura.

CDU 639.3.03

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Novas investigações sobre o desempenho reprodutivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) envolvendo variações no uso de prostaglandina $F_{2\alpha}$ exógena e no horário de indução hormonal

AUTOR: RAFAEL TOMODA SATO

ORIENTADOR: SERGIO RICARDO BATLOUNI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. SERGIO RICARDO BATLOUNI (Participação Presencial)

Laboratório de Reprodução de Peixes / Centro de Aquicultura da Unesp Caunesp, Jaboticabal-SP

Dr. LUCAS SIMON TORATI (Participação Virtual)

Núcleo Temático de Pesca e Aquicultura / Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO



Documento assinado digitalmente
LUCAS SIMON TORATI
Data: 03/03/2023 10:48:10-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof. Dr. RAFAEL YUTAKA KURADOMI (Participação Virtual)

Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) / Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus-AM

Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA (Participação Virtual)

Departamento de Biologia e Zootecnia / FEIS/Unesp, Ilha Solteira-SP



Documento assinado digitalmente
ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA
Data: 03/03/2023 12:11:20-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA WHITTON (Participação Virtual)

Departamento de Fisiologia Geral / Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências (IB/USP)



Documento assinado digitalmente
ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA
Data: 03/03/2023 12:11:20-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2023



Documento assinado digitalmente
RAFAEL YUTAKA KURADOMI
Data: 26/04/2023 15:02:05-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por sempre estar do meu lado e por me mostrar o caminho correto a seguir nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sergio Ricardo Batlouni, pela confiança, pelos conselhos e ensinamentos tanto na parte profissional quanto na parte pessoal.

Aos membros da banca examinadora da minha defesa, Dr. Lucas Simon Torati, Dr. Rafael Yutaka Kuradomi, Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton e Dra. Rosicleire Veríssimo Silveira, por aceitarem participar da minha banca e pela compreensão e paciência.

Aos meus filhos Lucas e Arthur, que, com certeza, são as duas melhores coisas que aconteceram na minha vida. São, literalmente, as razões da minha vida. Sou uma pessoa muito melhor depois que vocês chegaram.

À minha esposa Marina, por estar junto comigo nesta jornada, que diante de todos os nossos percalços e incertezas, seguimos firmes e fortes. Você é muito especial para mim, com certeza não teria conseguido sem você.

Aos meus pais e irmão, pelo apoio, compreensão e carinho durante toda a minha vida e, principalmente, neste período que não foi fácil. Não seria nada sem vocês.

À família da Marina, pela ajuda e pelo carinho em todos os momentos.

A todos os amigos que passaram pelo grupo de reprodução de peixes nativos: Marina, Jack, Muringa, Xina, Mari, Laíza, Tex, Milene, Wisdeyvi, Thiago, Cristiane, Roosevelt, Felipe e Dorimê pela ajuda nos experimentos e análises.

Ao meu amigo Jack, por todos os ensinamentos, mas principalmente pela amizade que perdura até hoje apesar da distância.

Aos funcionários Valdecir, Márcio, Luís, Silvinha, David, Mayara, Elaine e Lúcia, pela grande ajuda durante todo esse período.

A todas as pessoas que torceram para meu sucesso.

Muito Obrigado!

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) - Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

Ao longo da última década desenvolvemos um protocolo de hipofisacção associado a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) que aumentou a previsibilidade na desova do pacu, mas ainda assim, falhas na ovulação persistem em algumas fêmeas tratadas. Por isso, esta tese teve como objetivo principal aprimorar este protocolo, investigando dois novos aspectos: a) a associação entre ovulação bem-sucedida com o momento de aplicação e a concentração de $PGF_{2\alpha}$ sintética (manuscrito 1); e b) a associação entre ovulação bem-sucedida com o horário de aplicação da segunda dose hormonal, considerando especialmente os ritmos circadianos de melatonina (MTN) na espécie (manuscrito 2). Os manuscritos foram compostos por dois experimentos cada; e testes - piloto não relatados. No experimento 1 (manuscrito 1), 24 fêmeas foram hipofisadas e receberam 2 mL/peixe de $PGF_{2\alpha}$ sintética no momento da segunda dose (2D); ou cinco horas (5H) ou sete horas (7H) após a segunda dose da hipofisacção. No experimento 2 (manuscrito 1), as fêmeas foram induzidas com cinco doses de $PGF_{2\alpha}$ variando de 1,0 a 7,0 mL/kg aplicadas no momento da segunda dose da hipofisacção. O manuscrito 2, sobre ritmos circadianos de MTN, teve o experimento 1 composto por três grupos: controle (sem indução); controle salino (indução com solução salina); e hipofisacção. Neste experimento, os animais tiveram o sangue coletado a cada quatro horas, ao longo de 24 horas antes de ovulação (7h dia um até 7h dia 2), para quantificação dos níveis plasmáticos de MTN. No experimento 2 (manuscrito 2), com base nos níveis circadianos de MTN, o desempenho reprodutivo com indução hormonal iniciada às 19 horas (19H) e 0 horas (0H) foi comparado. Observamos no primeiro manuscrito, sobre variações no momento de aplicação da $PGF_{2\alpha}$ exógena, uma taxa de desova de 66,7% nos grupos 2D e 5H e de 50% no grupo 7H. Além disso, apenas o grupo 2D não apresentou desovas ruins (fecundidade <35.000 ovócitos/kg peixe). No experimento 2, sobre doses de $PGF_{2\alpha}$ exógena, as doses mais elevadas (5,5 e 7,0 mL/kg) foram as únicas que propiciaram 100% de desova, porém a viabilidade embrionária nestes grupos não foi satisfatória. No segundo manuscrito, sobre MTN, seus níveis foram similares ao longo de 24 horas entre os grupos controle e hipofisados. Quando analisados independentemente do tratamento, observamos que os níveis de MTN aumentam no início da noite às 19 horas do dia 1 e diminuem às 15 horas do dia 2. No experimento 2, as taxas de ovulação foram de 75% e 50% para os grupos 19H e 0H, respectivamente. O grupo 19H não apresentou desovas ruins. Além disso, o grupo (19H) obteve uma produção total de larvas (números absolutos) de 737.567, enquanto o grupo (0H) obteve 250.762. Portanto, nossas observações com o primeiro manuscrito não confirmam a especulação teórica que, aplicando $PGF_{2\alpha}$ mais próximo da ovulação e/ou elevando sua dose, mitigariam as falhas de desova ainda recorrentes com o protocolo em uso (estabelecido por Criscuolo-Urbinati et al., (2012)). Porém, em ambos experimentos, as fortes correlações positivas entre níveis de $PGF_{2\alpha}$ no momento da ovulação e fecundidade indicam que investigações neste sentido

devem ser continuadas. No segundo manuscrito, apesar do desempenho reprodutivo similar entre os grupos, a produção de larvas superior do grupo 19H indica que fêmeas submetidas a um maior período escuro pós-segunda dose possam apresentar maior sucesso na ovulação e na viabilidade embrionária. Portanto, este estudo consolida o uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena como ferramenta indutora da ovulação do pacu e traz fortes indícios iniciais, que precisam ser aprofundados, mostrando que a MTN tem associação importante com a ovulação da espécie e o início do período noturno é o mais adequado para indução hormonal, entre os períodos por nós testados.

Palavras-chave: falhas na ovulação, fotoperíodo, hipofiseação, peixes migradores, prostaglandina, ritmos circadianos.

ABSTRACT

Over the last decade we have developed a pituitary protocol associated with prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) that increased the predictability of pacu spawning, but even so, failures in ovulation persist in some treated females. Therefore, this thesis had as main objective to improve this protocol, investigating two new aspects: a) the association between successful ovulation with the moment of application and the concentration of synthetic $\text{PGF}_{2\alpha}$ (manuscript 1); and b) the association between successful ovulation and the time of application of the second hormonal dose, especially considering the melatonin circadian rhythms (MTN) in the species (manuscript 2). The manuscripts were composed of two experiments each; and tests - pilot not reported. In experiment 1 (manuscript 1), 24 females were hypophysectomized and received 2 mL/fish of synthetic $\text{PGF}_{2\alpha}$ at the time of the second dose (2D); either five hours (5H) or seven hours (7H) after the resolving dose of hypophysectomy. In experiment 2 (manuscript 1), females were induced with five doses of $\text{PGF}_{2\alpha}$ ranging from 1.0 to 7.0 mL/kg applied at the time of the resolving dose of hypophysectomy. Manuscript 2, about circadian rhythms of MTN, had experiment 1 composed of three groups: control (without induction); saline control (induction with saline solution); and hypophysectomy. In this experiment, the animals had their blood collected every four hours, over the 24 hours before ovulation (7h day one to 7h day 2), to quantify the plasma levels of MTN. In experiment 2 (manuscript 2), based on circadian levels of MTN, reproductive performance with hormone induction starting at 7 pm (19H) and midnight (0H) was compared. In the first manuscript, on variations in the moment of application of exogenous $\text{PGF}_{2\alpha}$, a spawning rate of 66.7% in the 2D and 5H groups and of 50% in the 7H group. Furthermore, only the 2D group did not have poor spawning (fecundity <35,000 oocytes/kg fish). In experiment 2, on exogenous $\text{PGF}_{2\alpha}$ doses, the highest doses (5.5 and 7.0 mL/kg) were the only ones that provided 100% spawning, but embryonic viability in these groups was

not satisfactory. In the second manuscript, on MTN, its levels were similar over 24 hours between the control and pituitary groups. When analyzed independently of treatment, we observed that MTN levels increase in the early evening at 7 pm on day 1 and decrease at 3 pm on day 2. In experiment 2, ovulation rates were 75% and 50% for groups 19H and 0H, respectively. The 19H group did not present bad spawns. Furthermore, the group (19H) obtained a total production of larvae (absolute numbers) of 737,567, while the group (0H) obtained 250,762. Therefore, our observations with the first manuscript do not confirm the theoretical speculation that, applying PGF_{2α} closer to ovulation and/or increasing its dose, would mitigate the still recurrent spawning failures with the protocol in use (established by Criscuolo-Urbinati et al., (2012)). However, in both experiments, the strong positive correlations between PGF_{2α} levels at the time of ovulation and fertility indicate that investigations in this direction should be continued. In the second manuscript, despite the similar reproductive performance between the groups, the higher larval production of the 19H group indicates that females subjected to a longer post-resolving dose dark period may be more successful in ovulation and embryonic viability. Therefore, this study consolidates the use of exogenous PGF_{2α} as a tool to induce pacu ovulation and provides strong initial evidence, which needs to be deepened, showing that MTN has an important association with the ovulation of the species and the beginning of the nocturnal period is the most appropriate for hormonal induction, between the periods we tested.

Keywords: ovulation failures, photoperiod, hypophysation, migratory fish, prostaglandin, circadian rhythms.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Características gerais da espécie-alvo

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é um caracídeo neotropical onívoro, nativo das bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai. Esta espécie possui características zootécnicas favoráveis como resistência a doenças e baixas temperaturas, boa aceitação pelo consumidor e rápido crescimento em várias condições de cultivo (Jomori et al., 2003; Souza et al., 2003; Gelman et al., 2004; Moro et al., 2013; Kuradomi et al., 2017; Mourad et al., 2018; Urbinati e Takahashi, 2020), e por essas razões, possui destacada importância comercial no continente americano, e mais recentemente, no mundo (Gelman et al., 2004; Valladão et al., 2018). No Brasil, existem mais de 14.500 estabelecimentos que cultivam o pacu, distribuídos principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-

Oeste, geralmente cultivados em viveiros escavados ou em tanques-rede (Moro et al., 2013; Peixe BR, 2020). Vários aspectos da produção de pacu já foram estabelecidos, como as exigências nutricionais (Abimorad & Carneiro, 2007; Abimorad et al., 2008; Honorato et al., 2016), manejo da larvicultura (Jomori et al., 2003, 2008; Leitão et al., 2011; Portella et al., 2014) e fisiologia (Biller-Takahashi et al., 2015; Takahashi et al., 2017; Marinho de Mello et al., 2019; Zanuzzo et al., 2019). O abate geralmente ocorre com um ano de idade, quando os animais têm cerca de 1 kg (Silva et al., 1997; Souza et al., 2003; Reis Neto et al., 2012; Mourad et al., 2018).

Esta espécie pertence a um grupo de peixes comercialmente conhecido como 'peixes redondos' (pacu; tambaqui (*Colossoma macropomum*); e pirapitinga, (*Piaractus brachypomus*)), bem como seus híbridos interespecíficos (tambacu, tambaqui x pacu; patinga, pacu x pirapitinga; e tambatinga, tambaqui x pirapitinga), que formam o segundo grupo de peixes mais produzidos no Brasil, representando aproximadamente 27% da produção aquícola brasileira em 2021 (IBGE, 2022). Neste mesmo ano, a produção brasileira atingiu 841 mil toneladas (Peixe BR, 2022). Além disso, as exportações deste grupo de peixes subiram expressivamente de 2019 para 2020, crescendo aproximadamente 650% para o tambaqui e 410% para o pacu (Peixe BR, 2021).

Como normalmente ocorre em peixes reofílicos (migração no período de reprodução), o ciclo reprodutivo do pacu é sazonal e a desova é do tipo total (Schorer et al., 2016; Urbinati e Takahashi, 2020). A diferenciação de suas gônadas em ovários se inicia aos 150 dias (Barbosa et al., 2022). A primeira maturação é atingida com aproximadamente 3 anos e 34 cm de comprimento total (Ferraz de Lima et al., 1984), se mantendo apta a reprodução pelo menos até os 10 anos (Schorer et al., 2016). Sua época de reprodução vai de outubro a março na América do Sul (Schorer et al., 2016; Urbinati e Takahashi, 2020).

CONCLUSÕES GERAIS

As modificações propostas no protocolo de hipofisacção associado a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não propiciaram um melhor desempenho reprodutivo se comparado ao protocolo já estabelecido por Criscuolo-Urbinati et al. (2012). A aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena para além da segunda dose de hipofisacção e mais próximo do período de ovulação não trouxe ganhos no desempenho, mas pelo contrário esteve associada a ocorrência de “desovas ruins”, caracterizadas por baixa fecundidade. A outra variável modificada, o aumento da dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena, propiciou sim estabilidade na ovulação com taxas de 100% de ovulação e ausência de desovas ruins, contudo, taxas de fertilidade e eclosão não foram satisfatórias. Não observamos associação entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ mais próximo da ovulação e o aumento de sua dose com níveis plasmáticos superiores de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no momento da ovulação. Entretanto, as correlações positivas fortes encontradas entre níveis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no momento da ovulação e fecundidade, indicam que, apesar de não ser necessariamente relacionados ao sucesso da ovulação, elevados níveis $\text{PGF}_{2\alpha}$ no momento da ovulação estão associados ao maior número de ovos liberados pelas fêmeas.

As concentrações plasmáticas de MTN não apresentaram variações entre animais controle e hipofisados. Quando analisados conjuntamente, observamos que os níveis de MTN se elevam no início da noite (19 horas) do dia 1, se mantêm semelhantes até às 11 horas e reduzem às 15 horas do dia 2. Durante a indução hormonal, níveis plasmáticos de MTN, PGF e DHP foram similares entre as fêmeas hipofisadas as 19 horas e 0 horas. Da mesma forma, o desempenho reprodutivo foi similar entre os dois grupos. Porém, o grupo 19H com o mesmo número de fêmeas, apresentou uma produção total (números absolutos) de 737.567 larvas, contra 250.762 do grupo 0H. Além disso, os níveis plasmáticos de MTN no momento da ovulação apresentaram correlação positiva com fecundidade, taxa de fertilidade, taxa de eclosão e larvas/kg peixe. Estes resultados indicam que, apesar de não apresentarem diferenças significativas entre os grupos (níveis hormonais e desempenho reprodutivo), fêmeas submetidas a um maior período escuro pós-segunda dose podem apresentar maior sucesso na ovulação e maior produção de larvas. Este aspecto necessita de explorações mais aprofundadas que envolvem a expressão de receptores das

substâncias envolvidas, entre outras variáveis e conhecimentos, tais como estudos sobre o horário de desova natural da espécie.

Por fim, este estudo, que testou doses e momentos aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, não confirmou as vantagens teóricas das alterações propostas em relação ao protocolo vigente, porém consolida a $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena como excelente ferramenta para indução a ovulação por suas fortes correlações positivas com fecundidade. Com relação a MTN, apresentamos de forma pioneira o ritmo circadiano desta substância no pacu e mostramos que, apesar de serem necessários mais investigações, a indução no início do período de escuro pode auxiliar no sucesso reprodutivo da espécie em cativeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abimorad, E. G., & Carneiro, D. J. (2007). Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles - fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*, 13, 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00438.x>
- Abimorad, E. G., Squassoni, G. H., & Carneiro, D. J. (2008). Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, 14(4), 374–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00544.x>
- Aizen, J., Kobayashi, M., Selicharova, I., Sohn, Y. C., Yoshizaki, G., Levavi-Sivan, B., 2012. Steroidogenic response of carp ovaries to piscine FSH and LH depends on the reproductive phase. *Gen Comp Endocrinol* 178: 28-36.
- Barbosa, R. P., Kuradomi, R. Y., Sato, R. T., Batlouni, S. R., 2022. *Piaractus mesopotamicus* gonad differentiation. *Aquaculture research*, 00:1–10. <https://doi.org/10.1111/are.15912>
- Berndtson, A. K., Goetz, F. W., & Duman, P. (1989). In vitro ovulation, prostaglandin synthesis, and proteolysis in isolated ovarian components of yellow perch (*Perca flavescens*): Effects of $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one and phorbol ester. *General and Comparative Endocrinology*, 75(3), 454–465. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(89\)90181-0](https://doi.org/10.1016/0016-6480(89)90181-0)
- Biller-Takahashi, J. D., Takahashi, L. S., Mingatto, F. E., Urbinati, E. C., 2015. The immune system is limited by oxidative stress: Dietary selenium promotes optimal antioxidative status and greatest immune defense in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 47(1), 360–367. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.09.022>

Blanco-vives, B., Sanchez-Vasquez, F. J., 2009. Synchronisation to light and feeding time of circadian rhythms of spawning and locomotor activity in zebrafish. *Physiology & Behavior*, 98 (3), 268-275. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.05.015>

Borella, M. I., Chehade, C., Costa, F. G., Jesus, L. W. O., Cassel, M., Batlouni, S. R., 2020. The brain-pituitary-gonad axis and the gametogenesis. In B. Baldisserotto, E. C. Urbinati, J. E. P. Cyrino (Eds). *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish* (pp. 315–341). Academic Press (Elsevier).

Carolsfeld, J. Harvey, B. Raer, A. Ross, C., 2003. *Migratory fishes of South America: Biology, Fisheries, and Conservation Status*. Ottawa: World Fisheries Trust, 373.

Castagnolli, N., Donaldson, E. M., 1981. Induced ovulation and rearing of the pacu (*Colossoma mitrei*). *Aquaculture*, 25, 275–279. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90189-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90189-7)

Carnevali, O., Gioacchini, G., Maradonna, F., Olivotto, I., Migliarini, B., 2011, Melatonin Induces Follicle Maturation in *Danio rerio*. *Plos one*, 6 (5), 1-9.

Chattoraj, A., Bhattacharya, S., Basu, D., Bhattacharya, S., Bhattacharya, S., Maitra, S.K., 2005. Melatonin accelerates maturation inducing hormone (MIH): induced oocyte maturation in carps. *Gen. Comp. Endocrinol.* 140, 145–155.

Chattoraj, A., Seth, M., Maitra, S.K., 2008. Influence of serotonin on the action of melatonin in MIH-induced meiotic resumption in the oocytes of carp *Catla catla*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 150, 301–306.

Criscuolo-Urbinati, E., Kuradomi, R.Y., Urbinati, E.C., Batlouni, S.R., 2012. The administration of exogenous prostaglandin may improve ovulation in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Theriogenology* 78, 2087–2094. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.001>

de Alba, G., Mourad, N. M. N., Paredes, J. F., Sánchez-Vázquez, F. J., López-Olmeda, J. F., 2019. Daily rhythms in the reproductive axis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Plasma steroids and gene expression in brain, pituitary, gonad and egg. *Aquaculture* 507: 313–321.

de Souza, T.G., Kuradomi, R.Y., Rodrigues, S.M., Batlouni, S.R., 2020. Wild *Leporinus friderici* induced spawning with different dose of mGnRHa and metoclopramide or carp pituitary extract. *Anim. Reprod.* 17, 1–15. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0078>.

Falcon, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf, G., 2007. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 18, 81-88 <https://doi.org/10.1016/j.tem.2007.01.002>.

Falcon, J., Migaud, H., Muñoz-Cueto, J. A., Carrilo, M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *Gen Comp Endocrinol* 165: 469-482.

Ferraz de Lima, J.A., Barbieri, G., Verani, J.R., 1984. Período de reprodução e idade a primeira maturação gonadal de pacu (*Colossoma mitrei*) em ambiente natural, (Rio

Cuiabá, - Pantanal de Mato Grosso). Anais do III Simpósio Brasileiro de Aquicultura, São Carlos, SP

Fujimori, C, Ogiwara, K, Hagiwara, A, Rajapakse, S, Kimura, A, Takahashi, T., 2011. Expression of cyclooxygenase-2 and prostaglandin receptor EP4b mRNA in the ovary of the medaka fish, *Oryzias latipes*: Possible involvement in ovulation. *Mol Cell Endocrinol* 332: 67–77

Fujimori, C., Ogiwara, K., Hagiwara, A., Takahashi, T., 2012. New evidence for the involvement of prostaglandin receptor EP4b in ovulation of the medaka, *Oryzias latipes*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 362(1–2), 76–84.

<https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.05.013>

Gelman, A., Drabkin, V., Sachs, O., Chechic, K., Gabay, I., Glatman, L., 2004. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) a new fish species in Israeli aquaculture: Possibility of utilization. *Developments in Food Science*, 42(C), 75–83.

[https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(04\)80010-4](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(04)80010-4)

Godinho, H. P., Godinho, A. L., 1986. Induced Spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (Berg 1895), by hypophysation with crude pituitary extract. *Aquaculture*, 55, 69–73.

[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90057-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90057-8)

Goetz, F. W., 1997. Follicle and extrafollicular tissue interaction in 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one-stimulated ovulation and prostaglandin synthesis in the yellow perch (*Perca flavescens*) ovary. *General and Comparative Endocrinology*, 105(1), 121–126.

<https://doi.org/10.1006/gcen.1996.6807>

Hagiwara, A., Ogiwara, K., Katsu, Y., Takahashi, T., 2014. Luteinizing Hormone-Induced Expression of Ptger4b, a Prostaglandin E2 Receptor Indispensable for Ovulation of the Medaka *Oryzias latipes*, Is Regulated by a Genomic Mechanism Involving Nuclear Progesterone Receptor1. *Biology of Reproduction*, 90(6), 1–14.

<https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.115485>

Hainfellner, P., de Souza, T. G., Moreira, R. G., Nakaghi, L. S. O., Batlouni, S. R., 2012a. Gonadal steroids levels and vitellogenesis in the formation of oocytes in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Teleostei: Characiformes). *Neotropical Ichthyology*, 10(3):601-612. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252012005000021>

Hainfellner, P., de Souza, T. G., Muñoz, M. E., Freitas, G. A., Batlouni, S. R., 2012b. Spawning failure in *Brycon amazonicus* may be associated with ovulation and not with final oocyte maturation. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*, 64(2), 515–517. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000200038>

Hainfellner, P., Kuradomi, R. Y., de Souza, T. G., Sato, R. T., Figueiredo-Ariki, D. G., De Freitas, G. A., Queiroz, L., Valenti, W. C., Valenti, P. M., Ge, W., Batlouni, S. R., 2019. Reproductive cycle of the Amazonian planktivorous catfish *Hypophthalmus marginatus* (Siluriformes, Pimelodidae). *Aquaculture Research*, 50, 3382–3391.

<https://doi.org/10.1111/are.14296>

Honorato, C. A., de Almeida, L. C., Camilo, R. Y., Moraes, G., Nunes, C. D. S., Carneiro, D. J., 2016. Dietary carbohydrate and food processing affect the digestive

physiology of *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 857–864.
<https://doi.org/10.1111/anu.12308>

Houssay, B. A., 1930. Accion sexual de la hipofisis em los peces y reptiles. *Rev Soc Arg Biol*, v.6, p.686-688, 1930.

IBGE “Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística”, 2022. Produção da Pecuária Municipal 2021, 11.

Ittzés, I., Szabó, T., Kronbauer, E. K., Urbanyi, B., 2015. Ovulation induction in jundia (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. *Aquac Res* 46: 2924–2928.

Jalabert, B., Szöllösi, D., 1975. In vitro ovulation of trout oocytes : Effect of prostaglandins on smooth muscle-like cells of the theca. *Prostaglandins*, 9(5), 765–778. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(75\)90113-6](https://doi.org/10.1016/0090-6980(75)90113-6)

Jalabert, B., Breton, B., Brzuska, E., Fostier, A., Wieniawski, J., 1977. A new tool for induced spawning: The use of 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture*, 10(4), 353–364. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(77\)90126-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(77)90126-0)

Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Malheiros, E. B., Portella, M. C., 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*, 221(1–4), 277–287. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00069-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00069-3)

Jomori, R. K., Ducatti, C., Carneiro, D. J., Portella, M. C., 2008. Stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. *Aquaculture Research*, 39(4), 370–381. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01760.x>

Joy, K.P., Singh, V., 2013. Functional interactions between vasotocin and prostaglandins during final oocyte maturation and ovulation in the catfish *Heteropneustes fossilis*. *Gen. Comp. Endocr.* 186, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.043>.

Kagawa, H., Gen, K., Okuzawa, K., Tanaka, H., 2003. Effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor-I on aromatase activity and P450 aromatase gene expression in the ovarian follicles of red seabream, *Pagrus major*. *Biol. Reprod.* 68, 1562–1568. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.008219>.

Khan, I., Thomas, P., 1996. Melatonin Influences Gonadotropin II Secretion in the Atlantic Croaker (*Micropogonias undulatus*). *General and Comparative Endocrinology* 104, 231–242. <https://doi.org/10.1006/qcen.1996.0166>

Knight, O.M., Van Der Kraak, G., 2015. The role of eicosanoids in 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one-induced ovulation and spawning in *Danio rerio*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 213, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.12.014>.

Kuradomi, R. Y., Foresti, F., Batlouni, S. R., 2017. The effects of sGnRHa implants on *Piaractus mesopotamicus* female breeders. An approach addressed to aquaculture.

Aquaculture International, 25(6), 2259–2273. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0186-2>

Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., 2018. PGF2 α and gonadal steroid plasma levels of successful and unsuccessful spawning *Piaractus mesopotamicus* (Teleostei, Characiformes) females. Aquacult. Int. 26, 1083–1094. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0269-8>

Leitão, N. J., Pai-Silva, M. D., de Almeida, F. L. A., Portella, M. C., 2011. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae. Aquaculture, 315(1–2), 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.006>

Levavi-Zermansky, B., Yaron, Z., 1986. Changes in gonadotropin and ovarian steroids associated with oocytes maturation during spawning induction in the carp. General and Comparative Endocrinology, 62(1), 89–98. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(86\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0016-6480(86)90097-3)

Lima, R.V.A., Bernardino, G., Val-Sella, M.V., Fava-de-Moraes, F., Schemy, R.A., Borella, M.I., 1991. Tecido germinativo ovariano e ciclo reprodutivo de pacus (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) mantidos e cativo. Bol Téc CEPTA. 4, 1-46.

Lima, A. F., Moro, G. V., Kirschnik, L. N. G., Barroso, R. M., 2013. Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes. In Embrapa. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos (pp 306-307). Embrapa pesca e aquicultura.

Lister, A. L., Van Der Kraak, G. J., 2008. An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation. Gen. Comp. Endocrinol. 159 (1), 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.07.017>

Lister, A. L., Van Der Kraak, G. J., 2009. Regulation of prostaglandin synthesis in ovaries of sexually mature zebrafish (*Danio rerio*). Mol Reprod Dev 76: 106

Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J., 2010. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. Gen. Comp. Endocrinol. 165 (3), 367–389. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022>

Marinho de Mello, M. M., de Fátima Pereira de Faria, C., Zanuzzo, F. S., Urbinati, E. C., 2019. β -glucan modulates cortisol levels in stressed pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with heat-killed *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology, 93(2019), 1076–1083. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.068>

Martinez-Chavez, C. C., Al-Khamees, S., Campos-Mendoza, A., Penman, D. J., Migaud, H., 2008. Clock controlled endogenous melatonin rhythms in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). Chronobiol. Int. 25, 31–49

Mastrochirico-filho, V. A., Ariede, R. B., Freitas, M. V., Lira, L. V. G., Agudelo, J. F. G., Pilarski, F., Reis Neto, R. V., Yáñez, J. M., Hashimoto, D. T., 2019. Genetic parameters for resistance to *Aeromonas hydrophila* in the Neotropical fish pacu (

Piaractus mesopotamicus). Aquaculture, 513(2019), 734442.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734442>

Moro, G. V., Rezende, F. P., Alves, A. L., Hashimoto, D. T., Varela, E. S., Torati, L. S., 2013. Espécies de peixe para piscicultura. In Embrapa. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos (pp. 36-37). Embrapa pesca e aquicultura.

Mourad, N. M. N., Costa, A. C., Freitas, R. T. F., Serafini, M. A., Neto, R. V. R., Felizardo, V. O., 2018. Weight and morphometric growth of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*) and their hybrids from spring to winter. Pesquisa Veterinária Brasileira, 38(3), 544–550.

<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4808>

Muniz, J. A., Catanho, M. T., Santos, A. J. G., 2008. Influência do fotoperíodo natural na reprodução induzida do tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). B. Inst. Pesca, 34(2): 205 – 211.

Mylonas, C. C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, 165(3), 516–534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>

Nagahama, Y., Yamashita, M., 2008. Regulation of oocyte maturation in fish. Development, Growth & Differentiation, 50, 195–219. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(08\)60565-7](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(08)60565-7)

Ogiwara, K., Takahashi, T., 2016. A Dual Role for Melatonin in Medaka Ovulation: Ensuring Prostaglandin Synthesis and Actin Cytoskeleton Rearrangement in Follicular Cells1. Biology of Reproduction, 94(3), 1–15.

<https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.133827>

Paredes J. F., Cowan M., López-Olmeda J. F., Muñoz-Cueto J. A., Sánchez-Vázquez F. J., 2019. Daily rhythms of expression in reproductive genes along the brain-pituitary-gonad axis and liver of zebrafish. Comp Biochem Physiol A 231: 158–169.

Paulino M. S., Sampaio M., Miliorini A. B., Murgas L. D. S., Lima F. S. M., Felizardo V. O., 2011. Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de buserelina. Bol Inst Pesca 37: 39–45.

Peixe BR, 2020. Anuário 2020 Peixe BR da piscicultura, 60–61.

Peixe BR, 2021. Anuário 2021 Peixe BR da piscicultura, 34.

Peixe BR, 2022. Anuário 2022 Peixe BR da piscicultura, 12–14.

Pereira, T. S. B., Boscolo, C. N. P., Moreira, R. G., Batlouni, S. R., 2017. The use of mGnRHa provokes ovulation but not viable embryos in *Leporinus macrocephalus*. Aquaculture International, 25(2), 515–529. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0049-2>

Pereira, T. S. B., Boscolo, C. N. P., Moreira, R. G., Batlouni, S. R., 2018. *Leporinus elongatus* induced spawning using carp pituitary extract or mammalian GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. Animal Reproduction, 15(1), 64–70.

<https://doi.org/10.21451/1984-3143-2017-AR983>

Portella, M. C., Jomori, R. K., Leitão, N. J., Menossi, O. C. C., Freitas, T. M., Kojima, J. T., Lopes, T. S., Clavijo-Ayala, J. A., Carneiro, D. J., 2014. Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. *Aquaculture*, 432, 402–417.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.032>

Reis Neto, R. V., Serafini, M. A., Tadeu, R., De Freitas, F., Allaman, I. B., Mourad, N. M. N., Lago, A. A., 2012. Performance and carcass traits in the diallel crossing of pacu and tambaqui. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 41(12), 2390–2395.

<https://doi.org/10.1590/S1516-35982012001200002>

Roza de Abreu, M., Silva, L.M.J., Figueiredo-Ariki, D.G., Sato, R.T., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., 2020. Reproductive performance of Lambari (*Astyanax altiparanae*) in a seminatural system using different protocols. *Aquac. Res.* 52 (2), 471–483.

<https://doi.org/10.1111/are.14905>.

Roza de Abreu, M., Silva, L.M.J., Figueiredo-Ariki, D.G., Sato, R.T., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., 2022. f. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737883>

Sato, R.T., Kuradomi, R.Y., Calil, M.C., Silva, L.M.J., Roza de Abreu, M., Figueiredo-Ariki, D.G., Batlouni, S.R., 2020. Resumption and progression of meiosis and circulating levels of steroids and prostaglandin F2 α of *Piaractus mesopotamicus* induced by hypophysation with prostaglandin F2 α . *Aquac. Res.* 52 (3), 1026–1037.

<https://doi.org/10.1111/are.14957>.

Schorer, M., Moreira, R. G., Batlouni, S. R., 2016. Selection of pacu females to hormonal induction: Effect of age and of evaluation methods. *Boletim do Instituto De Pesca*, 42(4), 901–913. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n4p901>

Silva, J. W. B. E., Bernardino, G., Silva Nobre, M. I., Ferrari, V. A., Mendonça, J. O. J., 1997. Cultivo do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holberg, 1887) em duas densidades de estocagem no nordeste do Brasil. *Boletim Técnico do CEPTA*, 10, 61–70.

Souza, V. L., Urbinati, E. C., Martins, M. I. E. G., Silva, P. C., 2003. Avaliação do Crescimento e do Custo da Alimentação do Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) Submetido a Ciclos Alternados de Restrição Alimentar e Realimentação. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 32, 19–28.

<https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000100003>

Souza F. N., Martins E. F. F., Corrêa R. A. C., de Abreu J. A., Pires L. B., Streit Jr. D. P., Lopera-Barrero, N. M., Povh J. A., 2018. Ovopel® and carp pituitary extract for induction of reproduction in *Colossoma macropomum* females. *Anim Reprod Sci* 195: 53-57.

Stacey, N. E., Pandey, S., 1975. Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. *Prostaglandins*, 9(4), 597–607. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(75\)90065-9](https://doi.org/10.1016/0090-6980(75)90065-9)

Takahashi, L. S., Biller-Takahashi, J. D., Mansano, C. F. M., Urbinati, E. C., Gimbo, R. Y., Saita, M. V., 2017. Long-term organic selenium supplementation overcomes the trade-off between immune and antioxidant systems in pacu (*Piaractus*

mesopotamicus). *Fish and Shellfish Immunology*, 60, 311–317.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.060>

Takahashi, T., Fujimori, C., Hagiwara, A., Ogiwara, K., 2013. Recent Advances in the Understanding of Teleost Medaka Ovulation: The Roles of Proteases and Prostaglandins. *Zoological Science*, 30(4), 239–247. <https://doi.org/10.2108/zsj.30.239>

Takahashi, T., Hagiwara, A., Ogiwara, K., 2018. Prostaglandins in teleost ovulation: A review of the roles with a view to comparison with prostaglandins in mammalian ovulation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 461, 236–247. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.09.019>

Tang, H., Liu, Y., Li, J., Li, G., Chen, Y., Yin, Y., Lin, H., 2017. LH signaling induced ptgs2a expression is required for ovulation in zebrafish. *Mol. Cell. Endocrinol.* 447, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.02.042>.

Tokarz, J., Möller, G., Hrabě De Angelis, M., Adamski, J., 2015. Steroids in teleost fishes: A functional point of view. *Steroids*, 103, 123–144. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.06.011>

Urbinati, E. C., Takahashi, L. S., 2020. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In B. Baldisseroto (org). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (pp 169-170). Editora UFSM.

Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>

Viveiros, A. T. M., Goncalves, A. C., Chiacchio, I. M., Nascimento, A. F., Romagosa, E., Leal, M. M., 2015. Gamete quality of streaked prochilod *Prochilodus lineatus* (Characiformes) after GnRHa and dopamine antagonist treatment. *Zygote* 23: 212–221

Von Ihering, R., de Azevedo, P., 1934. A curimatã dos açudes nordestinos (*Prochilodus argenteus*). *Archivos do Instituto Biologico*, 5, 143-178.

Zaniboni-Filho, E., Weingartner, M., 2007. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores (Induced breeding in migratory fishes). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Belo Horizonte, 31, (n.3): 367-373.

Zanuzzo, F. S., Sabioni, R. E., Marzocchi-Machado, C. M., Urbinati, E. C., 2019. Modulation of stress and innate immune response by corticosteroids in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 231, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.01.019>

Zohar, Y., Mylonas, C. C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: From hormones to genes. *Aquaculture*, 197(1–4), 99–136. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00584-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00584-1)