

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Indução à Maturação Final, Ovulação e Fertilização do Cachara,
Pseudoplatystoma fasciatum, em Cativeiro**

**Antonio Fernando Gervásio Leonardo
Biólogo**

**Jaboticabal -SP
Fevereiro/ 2003**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Indução à Maturação Final, Ovulação e Fertilização do Cachara,
Pseudoplatystoma fasciatum, em Cativeiro**

Antonio Fernando Gervásio Leonardo

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Elizabeth Romagosa

Dissertação apresentada ao Centro de Aquicultura da UNESP - Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Aquicultura - Área de Concentração em Aquicultura em Águas Continentais.

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
Fevereiro 2003

L581i Leonardo, Antonio Fernando Gervásio
Indução à Maturação Final, Ovulação e Fertilização do Cachara,
Pseudoplatystoma fasciatum, em Cativoiro
V, 34 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
de Aqüicultura, 2003

Orientadora: Elizabeth Romagosa

Banca examinadora: José Augusto Senhorini, Maria Inês Borella
Bibliografia

1. *Pseudoplatystoma fasciatum*. 2. Caracterização de fêmeas. 3.
Eficiência de hormônios. I. Título. II. Jaboticabal- Centro de
Aqüicultura

CDU 639.31

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação.
e-mail: leonardo@caunesp.unesp.br

Agradeço a meus pais, Antonio Leonardo e Suely Oliveira Gervásio, aos meus avós (Ilda e Jorge) e aos meus tios (Jorginho e Lígia) por toda dedicação, paciência, carinho, amor que sempre tiveram pela minha pessoa

Ofereço

A minha esposa (Ana Eliza Baccarin Leonardo) pela paciência, compreensão, dedicação, amor, carinho, sendo sempre meu porto seguro onde sei que quando levo problemas tu me trazes soluções

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por todos os momentos de minha vida.

À Orientadora e Professora Dr^a Elizabeth Romagosa, pela orientação, amizade e apoio em todos os momentos.

À família Scorvo (João, Celinha, Thiago, André, Juliana e Thiaguinho) por fazerem parte desta conquista, sempre prontos a me dar abrigo, e a João e Celinha pelas valiosas contribuições e ensinamentos para que esse trabalho se concretizasse.

Á meu amigo e irmão Yahn por sempre ter me incentivado durante todos esses anos.

À meu grande amigo, Sérgio Ricardo Batlouni (ICB - USP) pela ajuda e fidelidade, sempre pronto a ajudar.

A Professora Maria Inês Borella chefe do laboratório de Endocrinologia de Peixes do ICB da USP pelas importantes contribuições que sem elas este trabalho não poderia ser finalizado.

Aos técnicos Cruz Alberto Mendonça Júnior e Edson Rocha de Oliveira e aos companheiros do laboratório que ajudaram a realizar este trabalho.

Aos Diretores do Instituto de Pesca – APTA, SAA, SP (João Donato Scorvo Filho, gestão de 2001) e Edison Kubo (gestão de 2002) pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

Ao Diretor do Polo Regional de Desenvolvimento Sustentável do Vale do Ribeira, Dr Luiz Alberto Saes, e aos técnicos do Setor de Piscicultura, Benedito Martins de Aguiar e Edilberto Rufino de Almeida, pelo apoio concedido

Aos estagiários e amigos do Instituto de Pesca, Renato de Arruda Rolim, Helena Seixas Gameiro e Ana Paula Martins de Aguiar

A todos os professores do CAUNESP pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do CAUNESP pelo apoio nestes anos de trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida.

Aos meus amigos Nilton (Paraca), a república (Fabiano, Risal, Oba e Sérgio e Alex), Flavio e Juliana, Marcelo Tesser, Adriano e Denise, Claucia e Cesar, Fabio, Serguinho e Flavia, Twin e Karina, Mariana, Luciane, Fabiana, Daniela, Marcel, Claudinei, Rodrigão, Gaúcho, Luciene, Camilo, Maurício, Jaime, Japinha, Maura, Gustavo, Roseli, Alexandre, Leonardo Tachibana, Leonardo (Roquinho) e Antonio (Acre) por todos os momentos.

A todos meus colegas de curso pela convivência.

ÍNDICE

	Páginas
Introdução geral.....	1
Bibliografia.....	6
 Capítulo Caracterização e Eficiência Hormonal de Fêmeas de Cachara, <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766), Mantidas em Cativeiro	
Abstract.....	9
Resumo.....	10
Introdução.....	11
Material e Métodos.....	13
Resultados e Discussão.....	17
Conclusões.....	24
Referências Bibliográficas.....	25
Gráficos.....	29
Tabelas.....	30
Figuras.....	31
Anexos.....	32

Introdução Geral

Considerado como um dos mais nobres peixes brasileiros de águas continentais, o cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, é uma das espécies mais atingidas no Brasil pela construção de hidroelétricas (BEHR & HAYASHI, 1997), pela poluição dos rios e pelo assoreamento provocado por desmatamento de matas ciliar (TOLEDO, 1991). Os represamentos têm sido considerados a principal interferência humana no sistema hidrológico de águas continentais brasileiras, transformando os ambientes lóticos em novos ecossistemas com características de ambientes lênticos. Essas alterações promoveram, como conseqüência, mudanças revelantes na estrutura e composição das comunidades ictíicas, como redução dos estoques naturais (AGOSTINHO & THOMAZ, 1991).

Desta forma, a aquíicultura representa o melhor caminho para preservar a diversidade animal, suprimindo, ainda, a demanda crescente de fonte alimentar alternativa. Além disso, em virtude da sua intensa demanda, sobretudo nos mercados da região Sudeste (CURY, 1992), ainda que não esteja em risco eminente de extinção, vem tendo seus estoques naturais reduzidos pela pesca predatória e pelo comércio ilegal de pescados (GUIMARÃES & SILVA, 1989), muito embora a racionalização de suas capturas, através da legislação pesqueira, venha sendo defendida há décadas (MESQUITA, 1989).

Segundo KUBITZA; CAMPOS; BRUM (1998), a ordem dos Siluriformes engloba mais de 2.200 espécies de bagres, ou peixes de couro, espalhados por todos os continentes. O gênero *Pseudoplatystoma*, que inclui os maiores peixes da família Pimelodidae, habita exclusivamente a água doce e pode ser encontrado nas principais bacias hidrográficas Sul-americanas, como Amazônica, do Prata e do São Francisco. É compreendido pelas espécies: *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado), *Pseudoplatystoma fasciatum* (cachara), *Pseudoplatystoma tigrinum* (camapari ou pirambucu). Esses bagres possuem características zootécnicas e de mercado bastante atrativas despertando grande interesse na utilização destes

peixes para piscicultura nos últimos anos (CURY, 1992), além de estarem entre as espécies que apresentam maior potencial de mercado para a aqüicultura brasileira (TOLEDO, 1991), e são denominados genericamente “surubim”.

O cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, possui características morfológicas próprias da espécie com bandas transversais perpendiculares ao corpo, bem separadas entre si, claras e escuras sobre o tronco; a fontanela não alcança o processo occipital e não apresenta fendas transversais. Apresenta o corpo fusiforme e a cabeça deprimida; três pares de barbilhões dos quais um no maxilar, preto, e os outros dois mentonianos brancos. A boca é grande, subterminal com pré-maxilar ligeiramente projetado na frente da mandíbula inferior; os dentes são viliformes, os olhos são pequenos em posição dorsal; a nadadeira anal possui de 11 a 14 raios, sem espinhos; a nadadeira caudal com lóbulos arredondados; as nadadeiras dorsal e peitorais possuem um espinho duro, serrilhado que produz ictioxina causando dor quando se introduz o espinho ao se manipular os peixes. Não possui escamas sobre o corpo, o qual é revestido apenas por pele espessa, ou é coberto, parcial ou totalmente, por placas ósseas (BRITSKI et al., 1988). Segundo ROMAGOSA et al., (prelo) realizando experimentos com cacharas machos e fêmeas, concluiu que as fêmeas possuem maiores taxas de crescimento e peso em relação aos machos.

No Brasil, o surubim é um dos peixes de água doce de alto valor comercial, sendo da preferência da maioria dos Estados em suas variadas formas de apresentação, sem cabeça e eviscerado, filés ou postas. Considerado produto nobre, a carne do surubim é de cor clara e textura firme, o sabor é pouco acentuado, apresenta baixo teor de gordura e estão ausentes espinhos intramusculares, o que o torna adequada aos mais variados usos e preparos. Essas características atendem às preferências atuais e futuras de mercado de carne de peixe e fazem da carne do surubim um produto com grandes possibilidades de exportação (KUBITZA; CAMPOS; BRUM, 1998).

Com relação ao cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, a partir do ano 2000, informações sobre o comportamento biológico (reprodução, nutrição e doenças parasitárias) quando em condições de confinamento, vêm sendo realizadas pela equipe do Instituto de Pesca – APTA (ROMAGOSA comunicação pessoal). Estes estudos básicos são necessários não só para dar subsídios para melhorar as condições de criação, como também são importantes para consolidar este peixe como modelo biológico para futuras investigações científicas mais aprofundadas.

Os eventos biológicos que ocorrem nas etapas da reprodução possuem importantes conseqüências no patrimônio genético do futuro indivíduo e os estudos sobre sua manipulação na piscicultura têm propiciado o desenvolvimento de promissoras técnicas de manejo. Com efeito, FREIRE - BRASIL (2001) argumenta que a indução hormonal da reprodução em espécies reoflicas visa otimizar a eficiência reprodutiva, podendo-se utilizar a poliploidia e ginogênese para obter o melhoramento genético dos estoques cultivados, alterando qualitativa e quantitativamente o genoma dos peixes.

Este procedimento foi amplamente adotado e, sucessivamente, passou por alterações, frutos dos novos conhecimentos e das condições ambientais de cada região. LAM (1982) relacionou vários protocolos e alternativas hormonais no emprego da reprodução induzida de teleósteos. No entanto, nossa diversidade ictiológica é muito grande e cada grupo filogenético tem suas características biológicas específicas e, sendo assim, demanda ajuste nos protocolos técnicos.

Na criação de espécies de peixes que fazem migração reprodutiva, a maturação final do ovócito tem sido feita pelo uso de hormônios (naturais ou sintéticos) processo rotineiramente chamado de reprodução induzida. Esta técnica, originalmente desenvolvida à partir da aplicação de extrato de pituitária, retoma a meiose e promove a maturação final do ovócito (von IHERING & AZEVEDO, 1936; GOETZ, 1983). O sucesso desta prática

mostrou que os controles endócrino e metabólico são os principais reguladores endógenos dessa etapa da ovogênese e, por conseguinte, os estudos concentraram-se em sua maioria sobre esses enfoques com espécies de peixes de regiões temperadas (LAM, 1982; NAGAHAMA, 1983).

A procura de novas alternativas para obtenção de desovas em peixes tropicais conduziu à busca por produtos sintéticos como às gonadotrofinas, levando ao desenvolvimento de técnicas de 2^a geração para indução à maturação final, ovulação e espermiacção. O uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) tem sido amplamente utilizado na indução à reprodução de numerosas espécies nativas (FENERICH et al., 1974; ANDRADE-TALMELLI et al., 2002). Segundo CARRILLO et al (2001) as gonadotropinas (GtH) são hormônios glicoproteicos de origem hipofisária e placentária (mamíferos) que estimulam o desenvolvimento das gônadas. A hipófise dos teleósteos secretam duas classes de gonadotrofinas a GtH-I (vitelogênese e da espermogênese) e GtH-II (maturação final dos ovócitos e ovulação), sendo o principal responsável pela secreção e liberação de ambas e o GnRH.

No Brasil, os primeiros ensaios na tentativa de se padronizar a técnica de indução à reprodução, foram realizados por GODINHO et al., (1977), com o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (*Colossoma mitrei*). Entretanto, devido a inúmeras dificuldades para se obter reprodutores adequados, ROMAGOSA et al., (1990) prosseguiram os experimentos com a mesma espécie empregando métodos de seleção rigorosamente científicos. Como indicador do grau de maturação dos ovários tem-se utilizado o método de medição dos diâmetros dos ovócitos, anteriormente descritos por FENERICH-VERANI et al., (1984) para o curimatá, *Prochilodus scrofa*. Mais recentemente, foram realizados estudos com espécies do gênero *Brycon* por ROMAGOSA et al., (2001), ANDRADE-TALMELLI et al., (2002) e NARAHARA et al., (2002) com êxito.

Segundo ROMAGOSA et al., (2001) torna-se necessário o domínio na manipulação das atividades reprodutivas para definir uma tecnologia que se baseie em parâmetros confiáveis, possibilitando a produção de alevinos de boa qualidade. Entretanto, os autores afirmam que a interpretação dos resultados experimentais nem sempre são fáceis, pois existem vários fatores, tais como: condições ambientais, fisiologia da própria espécie, hábitos alimentares, idade, estágio de desenvolvimento gonadal em que se encontra o reprodutor, tamanho dos ovos, fecundidade, viabilidade dos ovos e larvas etc., fatores estes que interagem entre si.

Diante do exposto, é possível verificar a grande importância de estudos visando o sucesso na indução da reprodução, principalmente com interesse comercial, fundamentadas no conhecimento do desenvolvimento ovocitário, desde a seleção das fêmeas até o momento da ovulação e fertilização (Anexos).

Os aspectos abordados neste trabalho, justificaram a publicação de um artigo científico na Revista AQUACULTURE, The Netherlands, enviado em agosto de 2002.

Referências Bibliográficas

- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M. 1991. Análise descritiva das capturas de peixes e condições ambientais em uma planície de inundação do rio Paraná. In: *Resumos do IX Encontro Brasileiro de Ictiologia*, Maringá, Pr. p. 136.
- ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. 2002. Reprodução induzida da piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) (Characiformes, Bryconinae), mantida em confinamento. R. Bras. Zootec. 31, 803-811 (suplemento).
- BEHR, E. R.; HAYASHI, C. 1997. Alimentação de larvas de *Pseudoplatystoma corruscans* (AGASSIZ, 1829) em bandejas de berçário durante o período crítico. In: *Resumos do XII Encontro Brasileiro de Ictiologia*, São Paulo. p.51.
- BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. 1988. *Manual de identificação de peixes na região de Três Marias (com chave de identificação para peixes da Bacia do São Francisco)*. 3ª Ed. Brasília. CODEVASF, p. 115.
- CARRILLO, M.A.; RODRIGUEZ, H; VICTORIA, P. 2001. Fundamentos da Acuicultura Continental 2ª Ed. Bogotá. INPA, p. 423.
- CURY, M. X. 1992. Cultivo de pintado e cachara. *Panorama da Aqüicultura*. p.8-9.
- FENERICH, N. A., GODINHO, H. M., BARKER, J. M. B., 1974. Sobre a ocorrência da ovulação de *Rhamdia hilarii*, *Pimelodus maculatus*, *Salminus maxillosus*, em laboratório. *Ciência e Cultura* 26, 344.
- FENERICH-VERANI, N.; NARAHARA, M. Y.; GODINHO, H. M. 1984. The size composition of eggs of curimatá *Prochilodus scrofa*, Steind., 1881, induced to spawn human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture* 42, 37-41.

- FREIRE - BRASIL, D. F. 2000. *Análise Estrutural e Ultraestrutural da Maturação Final do Ovócito, Fertilização e Primeira Clivagem do curimatá, Prochilodus lineatus*. Tese de Doutorado, CAUNESP, Jaboticabal, SP. p. 75.
- GODINHO, H. M.; FENERICH, N. A.; NARAHARA, M. Y.; BARKER, J. M. B. 1977. Sobre a reprodução induzida do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). *Ciênc. e Cult.* 29, 796-797 (suplemento).
- GOETZ, F. W. 1983. *Hormonal control of oocyte maturation and ovulation*. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J; DONALDSON, E. M. (eds). *Fish Physiology*, v. 9 B: 117-170, Academic Press, London.
- GUIMARÃES, G.; SILVA, A. L. da. 1989. *A rota do pintado. Lazer e Esporte no Meio Ambiente*. Ed. Aruanã. ano II. n.11, p. 44 – 46.
- KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; BRUM, J. A. 1998. Produção intensiva de surubins no Projeto Pacu. Ltda. e Agropeixe Ltda. In: *Anais da Aqüicultura*, v. 1, Recife, Pernambuco, p. 393- 407.
- LAM, T. J. 1982. Application of endocrinology to fish culture. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 39: 111-37.
- MESQUITA, F. C. de M. 1989. *Legislação Pesqueira para o Pantanal. Lazer e Esporte no Meio Ambiente*. Ed. Aruanã. ano III. n. 17, p. 66-67.
- NAGAHAMA, Y. 1983. The functional morphology of teleosts gonads. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J; DONALDSON, E. M. (eds). *Fish Physiology*, v. 9 A, p. 223 –64, Academic Press, London.
- NARAHARA, M. Y.; ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; GODINHO, H. M. 2002. Reprodução Induzida da Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), Mantida em Condições de Confinamento. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.3, p. 1070 – 1075.

- ROMAGOSA, E., PAIVA, P. de., GODINHO, H. M., ANDRADE-TALMELLI, E. F.,
Características morfométricas e crescimento do cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*
(Linnaeus, 1766), mantido em confinamento. Scientia Agrícola (prelo).
- ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; BORELLA, M. I.; FENERICH-VERANI, N., 2001.
Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a
reprodução. Bol. Inst. Pesca 27, 113-121.
- ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H. M. 1990. Pattern of oocyte diameter frequency
distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)
(*Colossoma mitrei* Berg, 1895) induced to spawn. Aquaculture 86, 105-110.
- TOLEDO, L. R. 1991. *Novo hóspede nos açudes*. Revista Globo Rural. p.55 – 61. junho
- von IHERING, R.; AZEVEDO, P. de. 1936. A desova e a hipofiseação dos peixes. Evolução
de dois Nematognathas. Arch. Inst. Biol., 7: 107- 24.

**CARACTERIZAÇÃO E EFICIÊNCIA HORMONAL DE FÊMEAS DE CACHARA,
Pseudoplatystoma fasciatum (Linnaeus, 1766),
MANTIDAS EM CATIVEIRO**

Antônio Fernando Gervásio Leonardo^a; Elizabeth Romagosa^b
Maria Inês Borella^c; Sérgio Ricardo Batlouni^c

^a pós-graduando do CAUNESP/UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellani, s/n., Jaboticabal, São Paulo, Brasil CEP: 14870-000

^b Centro de Desenvolvimento de Pesquisa em Peixes Ornamentais, APTA, SAA, SP, Brasil

^c Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Ciências Biomédicas, USP/SP, Brasil

Abstrat

In the months of January 2001 and January 2002, females of cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, were selected during their first and second gonadal maturation (2 years and 7 months old and 3 years and seven months old, respectively) according to the association between the external anatomic characteristics and internal, showing distribution of oocyte diameter frequency with a single mode of 937.5 μm ; 82.5 % of central nuclei and 17.5 % of eccentric nuclei. Histologically, it was observed that the majority of oocytes were in final maturation. Nine females in first maturation received 2 doses of carp pituitary extract (CPE), 0.5 mg/kg and 5.0 mg/kg (T1); seven received 2 doses of hCG, 5 and 10 IU/g (T2); five received doses of carp pituitary extract 0.5 mg/kg and hCG 5IU/g (T3); four received 0.9 % saline (T4). Nine females from T1 and seven from T2 presented oocytes with the same diameter at the moment of oocyte release; 100 % with germinal vesicle breakdown and fertilization rate of 53.44 ± 18.3 and 54.81 ± 11.8 %; larvae number of $165,330 \pm 94.1$ and $158,570 \pm 20.6$, respectively. The five females from T3 didn't respond to the hormonal treatment. The four females from T4 belonged to the control group. In January 2002, 6 of the 15 selected females that were going through the second cycle received T1; 5 received T2; and 4 received T4, showing oocyte diameters similar to the ones in the first maturation. On the third samples, the females from T1 showed mode shift to the right and modal diameter of 1062.5 μm ; the females from T2 presented diameters ranging from 937.5 μm to 1125.0 μm ; fertilization rates of 56.08 ± 30.9 and 81.90 ± 17.3 %; $364,547 \pm 244$ and $633,129 \pm 190$ larvae, respectively. Under light microscopy, it was noticed that the oocytes were similar to the ones at the previous stage. A better efficiency of T2 was verified on the second maturation females, considering the fertilization rates and larvae number obtained during the research period.

Key words: characterization the females, efficiency hormonal, *Pseudoplatystoma fasciatum*

Resumo

Nos meses de janeiro de 2001 e 2002, as fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, de 1ª e 2ª maturação gonadal (2 anos e 7 meses e 3 anos e 7 meses), respectivamente, mantidas em cativeiro, foram selecionadas pela associação da característica externa anatômica, com internas, apresentando distribuições de frequência porcentual dos diâmetros dos ovócitos com uma única moda de 937,5 µm; 82,5% dos núcleos centrais e 17,5% excêntricos. Histologicamente, pôde-se observar que a maioria dos ovócitos encontravam-se em fase de maturação final. Nove fêmeas de 1ª maturação, receberam 2 doses de extrato de hipófise de carpa (HC), 0,5 mg/Kg e 5,0 mg/Kg (T1); 7, com 2 doses de hCG, 5 e 10 IU/g (T2); 5, com 0,5 mg/Kg HC e 5 IU/g hCG/g (T3); 4 com solução salina 0,9% (T4). As 9 fêmeas do T1 e 7 do T2, no momento da liberação dos ovócitos, apresentaram ovócitos com o mesmo diâmetro; 100% com quebra da vesícula germinativa e taxas de fertilização de: $53,44 \pm 18,3$ e $54,81 \pm 11,8$ %; número de larvas de $165.330 \pm 94,1$ e $158.570 \pm 20,6$, respectivamente. As 5 fêmeas do T3 não responderam ao tratamento hormonal. As fêmeas do T4 pertenciam ao grupo controle. Em janeiro/02, das 15 fêmeas selecionadas, que se encontravam no 2º ciclo, 6 receberam o T1, 5 o T2 e 4 T4, apresentando diâmetros dos ovócitos semelhantes às de 1ª maturação. Nas 3ªs amostras, as fêmeas do T1 apresentaram deslocamento das modas para à direita, diâmetro modal de 1062,5 µm e as do T2, com diâmetros de 937,5 a 1125,0 µm, taxas de fertilização de $56,08 \pm 30,9$ e $81,90 \pm 17,3$ % e 334.547 ± 244 e 633.129 ± 190 larvas, respectivamente. Em microscopia de luz, notou-se que os ovócitos eram semelhantes aos da fase anterior. Pôde-se constatar maior eficiência do T2, nas fêmeas de 2ª maturação, quanto às taxas de fertilização e número de larvas obtidos durante o período estudado.

Palavras-chaves: caracterização de fêmeas, eficiência dos hormônios, *Pseudoplatystoma fasciatum*

Introdução

Os surubins, pertencentes ao gênero *Pseudoplatystoma*, realizam migrações reprodutivas, as quais culminam com a desova (Resende et al., 1995) e, quando mantidos em ambientes confinados, apresentam bloqueios durante o ciclo gonadal (Miranda, 1997). A cachara, espécie escolhida, neste estudo, para atingir a maturação final dos ovócitos, requer o uso de hormônios (naturais ou sintéticos), processo que vem sendo usualmente empregado por pesquisadores e que é amplamente difundido entre os criadores, sendo conhecido também como “técnica de hipofisacção”, preconizado por von Ihering e Azevedo, desde 1936.

De acordo com Nagahama (1983), o sucesso desta prática depende do controle endócrino da maturação dos ovários, que é exercido por mecanismos internos (endocrinológicos e genéticos) e externos (climáticos, meteorológicos e hidrológicos).

Os primeiros ensaios na tentativa de se padronizar a técnica de indução à reprodução, foram realizados por Godinho et al., (1977), com pacu, *Piaractus mesopotamicus* (*Colossoma mitrei*). Entretanto, devido à inúmeras dificuldades para se obter reprodutores adequados, Romagosa et al., (1990) prosseguiram os experimentos com a mesma espécie empregando métodos de seleção rigorosamente científicos. Como indicador do grau de maturação dos ovários tem-se utilizado o método de medição dos diâmetros dos ovócitos, anteriormente descritos por Fenerich-Verani et al., (1984) para o curimbatá, *Prochilodus scrofa*. Mais recentemente, foram descritas para espécies do gênero *Brycon* por Romagosa et al., (2001) e Andrade-Talmelli et al., (2002) com êxito.

Recentemente, Zohar e Mylonas (2001) fizeram uma revisão sobre a ação dos hormônios reprodutivos e descreveram as estratégias reprodutivas referentes à desova.

Segundo Romagosa et al., (2001) torna-se necessário o domínio na manipulação das atividades reprodutivas para definir uma tecnologia que se baseie em parâmetros confiáveis, possibilitando a produção de alevinos de boa qualidade. Entretanto, os autores afirmam que a

interpretação dos resultados experimentais nem sempre são fáceis, pois existem vários fatores, tais como: condições ambientais, fisiologia da própria espécie, hábitos alimentares, idade, estágio de desenvolvimento gonadal em que se encontra o reprodutor, tamanho dos ovos, fecundidade, viabilidade dos ovos e larvas etc., fatores estes que se interagem entre si.

O objetivo desse trabalho foi caracterizar em que fase de maturação gonadal se encontravam as matrizes reprodutoras de fêmeas de cachara, *P. fasciatum*, através de métodos de observação macroscópica da anatomia externa do animal (ventre distendido e presença ou ausência da papila urogenital) associados à observação microscópica, por meio da retirada de subamostras de ovócitos intraováricos por canulação, com a finalidade de se determinar o grau de desenvolvimento dos ovócitos através da medida do diâmetro dos mesmos, da posição da vesícula germinativa ou núcleo, e descrever as estruturas presentes ao microscópio de luz. Além disso, pretendeu-se também, verificar a eficiência hormonal sobre a ovulação e desova através da estimativa das taxas de fertilização e do número de larvas.

Resumindo, este trabalho pretende contribuir para ampliar o conhecimento de dois campos interligados, a biologia reprodutiva e a piscicultura, consolidando a tecnologia de produção de larvas da espécie estudada.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Setor de Piscicultura do Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável do Vale do Ribeira – APTA, situado no município de Pariquera-Açu, São Paulo, Brasil, em janeiro de 2001 e 2002.

Para o desenvolvimento deste trabalho, em janeiro de 2001, foram utilizados 25 fêmeas e 25 machos de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, provenientes de reprodução induzida criados em cativeiro, que se encontravam em 1^a maturação gonadal com 2 anos e 7 meses de idade e, em janeiro de 2002, 15 fêmeas e 30 machos, em 2^a maturação gonadal com 3 anos e 7 meses de idade. Os exemplares foram mantidos em 4 viveiros escavados de terra, com área de 200 m², profundidade média de 1,50 m, vazão igual a 18 L/min., na densidade de estocagem de 4 peixes/m².

Os peixes foram alimentados com ração balanceada (40 % P.B.), oferecida duas vezes ao dia, às 8:00 e às 17:00 horas, durante 7 dias da semana, na proporção de 5% da biomassa total nos meses quentes (setembro a fevereiro) e 1% nos meses frios (março a agosto).

As fêmeas foram selecionadas no próprio viveiro, observando-se aspectos externos, tais como, ventre distendido ou abaulado e presença ou não de papila urogenital saliente e, nos machos, obtenção de sêmen por massagem abdominal, realizada no sentido ântero-posterior, e este sendo analisado macroscopicamente quanto à coloração e fluidez. Os peixes selecionados foram mantidos individualmente em laboratório, individualmente, em caixas d'água com capacidade de 500 L.

Com a finalidade de se determinar o grau de desenvolvimento dos ovócitos intraováricos das fêmeas selecionadas, foi realizado o estudo da distribuição de frequência porcentual dos seus diâmetros, técnica que foi utilizada por Fenerich-Verani et al., (1984). Assim, de cada fêmea foram retiradas 3 amostras: 1^a amostra (antes da 1^a dose hormonal), 2^a amostra (antes da 2^a dose hormonal) e 3^a amostra (momento da ovulação ou extrusão), por

meio de cânula plástica inserida na papila urogenital (sonda uretral humana n^o 8). Cada amostra foi de aproximadamente 200 ovócitos, dividida em 3 subamostras, sendo a primeira fixada em uma solução de GILSON (Simpson, 1951), por 30 minutos, e posteriormente, feita à leitura dos seus diâmetros sob microscópio estereoscópio WILD M7 (objetiva 17 X) com auxílio de ocular micrométrica (10 X). A partir dos dados obtidos foram confeccionados gráficos de distribuição de frequência porcentual e calculado para as 1^{as} e 3^{as} amostras de cada fêmea. A segunda subamostras foi colocada em líquido de Serra (Brzuska, 1979), visando tornar o ovócito translúcido e assim, permitir a visualização ou não da vesícula germinativa ou núcleo. A leitura foi realizada, imediatamente após a fixação, e considerada de acordo com a posição do núcleo: 1) central (NC); 2) excêntrico (NE); 3) quebra da vesícula germinativa (QVG), quando o núcleo não é mais visível. A terceira subamostras foi fixada em líquido de Bouin, por 6 horas, sendo processada segundo as técnicas rotineiras de inclusão em historesina do laboratório de Endocrinologia de Peixes do ICB/USP.

No 1^o ciclo reprodutivo (jan/01) foram utilizados 4 tratamentos hormonais:

Tratamento 1: extrato de hipófise de carpa (HC) diluído em solução salina de 0,9 %: 1^a dose de 0,5 mg/Kg e a 2^a de 5,0 mg/Kg;

Tratamento 2: gonadotropina coriônica humana (hCG), nome comercial: PREGNYL – Organon do Brasil: 1^a dose de 5 UI/g e a 2^a dose de 10 UI/g.

Tratamento 3: extrato de HC diluída em solução salina de 0,9 % combinado com hCG: 1^a dose de 0,5 mg de HC / Kg e a 2^a de 5 UI de hCG/g.

Tratamento 4: Controle - aplicação de 1,0 mL de solução salina a 0,9 %, nas 2 doses.

Em todos os tratamentos, o intervalo entre as 2 doses foi de 10 horas. Os casais foram constituídos na proporção de 1 fêmea:1 macho. Neste ciclo reprodutivo, os machos se encontravam em 1^a maturação gonadal, com 1 ano e 6 meses de idade (Batlouni, comunicação

peçoal). Devido a grande quantidade de sêmen liberada não houve necessidade destes receberem qualquer tratamento hormonal.

Em jan/02, utilizou-se para as fêmeas somente os tratamentos T1, T2 e T4, obedecendo o mesmo intervalo de 10 horas, entre as 2 doses hormonais. Neste 2^a ciclo os machos receberam uma única dose de 1,5 mg de HC / Kg, no momento da 2^a dose hormonal das fêmeas. Os casais foram constituídos de 1 fêmea: 2 machos.

As doses hormonais foram injetadas na base da nadadeira peitoral. Após a aplicação, cada fêmea foi mantida isolada, em uma caixa d'água de 500 L, com aeração e renovação constante de água. Os machos injetados foram marcados com fio colorido, na nadadeira dorsal, e mantidos isolados das fêmeas, sendo utilizados somente no momento da fertilização dos ovócitos.

O período de latência das fêmeas de 1^a e 2^a maturação gonadal foi de 10 h e 13 h respectivamente, após a 2^a dose hormonal.

Quando foi possível visualizar nas caixas d'água a presença de alguns ovócitos, as fêmeas foram retiradas e a seguir, realizou-se massagem abdominal para que ocorresse a liberação dos ovócitos, processo popularmente denominado de “extrusão”. Para os machos, utilizou-se procedimento semelhante. A fertilização foi feita à “seco” segundo a metodologia utilizado por von Ihering e Azevedo (1936).

Após a fertilização (5 a 7 minutos), os ovos de cada fêmea foram colocados em incubadoras cônicas de fibra de vidro, com capacidade de 250 L, com renovação constante d'água e vazão de 1 L/8 seg, durante o período de 4 h e posteriormente, 1 L/10 seg. Cada incubadora recebeu no máximo 120 g de ovos. A taxa de fertilização e o número de larvas foram estimadas utilizando-se a metodologia descrita por Romagosa et al., (1990).

Foram realizadas análises da qualidade da água das caixas dos reprodutores, registrando-se os valores de temperatura, oxigênio dissolvido e amônia. Paralelamente, foram

feitas algumas observações climáticas, durante todo o experimento, sendo anotados os dias de chuva e a precipitação pluviométrica, dados estes cedidos pelo Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável do Vale do Ribeira, Pariquera-Açu, SP.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, num esquema de parcela subdividida no tempo (split plot in Time), onde foram testados os tratamentos hormonais, com duas avaliações no tempo (1^a e 2^a maturação) sobre os dados de taxa de fertilização e número de larvas. Os valores obtidos foram submetidos ao teste F para análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Na 1ª etapa deste trabalho, pretendeu-se associar as características visuais externas às internas, nas fêmeas de cachara *P. fasciatum*. Estas características foram avaliadas por meio do grau de desenvolvimento dos ovócitos intraováricos, da posição da vesícula germinativa e da descrição morfológica dos ovócitos, na tentativa de demonstrar que esses animais estariam aptos para serem induzidos à reprodução.

Dentre as características externas, foi verificado anteriormente que as fêmeas de cachara apresentaram maiores valores de comprimento e peso quando comparadas aos machos (Romagosa et al., prelo), o mesmo observado neste estudo.

Os dados das médias de comprimento e peso das fêmeas e dos machos, obtidos durante os dois ciclos reprodutivos, em cativeiro, nas condições da região do Vale do Ribeira, SP, encontram-se na Tabela 1.

Observações feitas neste estudo, durante o período reprodutivo, mostraram que exemplares de cacharas não apresentam dimorfismo em relação à papila urogenital. Estes resultados diferem dos obtidos por Reyes e Huq (1990), em exemplares da mesma espécie, capturados na natureza, que apresentavam um prolongamento da papila urogenital nos machos, e ausente nas fêmeas. Estas características são comuns em bagres de rios, segundo Narahara et al., (1985), em *Rhamdia hilarii*. Os autores registraram que a taxa de crescimento das fêmeas também foi maior em relação ao dos machos.

Para análise das características internas, utilizou-se neste estudo, a retirada de ovócitos intraováricos, realizada por meio de canulação, baseada na técnica descrita pela primeira vez por Fenerich-Verani et al., (1984) para o curimbatá (*Prochilodus scrofa*), espécie pertencente ao rio Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil. Mais recentemente, Romagosa et al., (2001) e Andrade-Talmelli et al., (2002) utilizaram a mesma técnica, para o gênero *Brycon*, obtendo resultados positivos.

Sabe-se que a retirada de ovócitos através desta técnica tem gerado polêmica por parte de alguns pesquisadores, em relação a possíveis lesões traumáticas causadas no tecido ovariano, durante o processo de canulação. No presente experimento, não foi constatado traumatismo, tendo sido, posteriormente, realizados cortes histológicos seriados para comprovar a presença ou não de lesões. O mesmo já havia sido constatado por Romagosa et al., (2001) em estudos realizados com *Brycon cephalus*. Entretanto, Freire-Brasil et al., (2001) obtiveram resultados diferentes. Deve-se salientar que, os autores utilizaram sonda uretral de maior calibre, o que provavelmente causou ferimentos internos.

No presente estudo, a análise dos resultados obtidos das 1^{as} amostras das 25 fêmeas do 1^o ciclo e das 15 fêmeas do 2^o ciclo mostrou que a distribuição de frequência porcentual dos diâmetros dos ovócitos apresentou moda maior ou igual a 937,5 µm (Figuras 1A e 1B). Estas fêmeas também foram avaliadas quanto à posição do núcleo, sendo que apresentaram em média 82,5 % dos ovócitos com NC e 17,5 %, NE. Pode-se observar na Figura 3A que o citoplasma dos ovócitos das 1^a amostras apresentou grande quantidade de grânulos de vitelo distribuídos por toda a célula. O núcleo pode ser observado tanto no centro do ovócito, como excentricamente (Fig. 3A). Geralmente, a disposição dos alvéolos corticais ocorreu bem na extremidade do ooplasma perinucleolar (Fig. 3B). A zona radiata apresentou-se delgada, com estriações e as células foliculares com arranjo aparentemente reticular. A teca, camada unicelular disposta sobre as células foliculares é constituída de células achatadas (Fig. 3B). Nossos resultados corroboram com os de Kunkel e Flores (1996) e Romagosa et al., (2000) caracterizando os ovócitos das fêmeas de *P. coruscans* e *P. fasciatum* nos estádios de maturação final. Estruturas histológicas semelhantes também foram descritas por Reyes e Huq (1990), em exemplares da mesma espécie, no habitat natural.

Em uma 2^a etapa, procurou-se verificar a ação dos agentes hormonais utilizando-se nas fêmeas o HC (T1), nas dosagens usuais de 0,5 e 5,0 mg/Kg preconizada por

Woyanoróvich e Horvart (1983). No T2 foi utilizado o hCG, em 2 doses, baseado nas pesquisas realizadas por Fenerich et al., (1974) em três espécies, *Rhamdia hilarii*, *Pimelodus maculatus* e *Salminus maxillosus*; Romagosa et. al., (1990), com *Piaractus mesopotamicus* e Antoniutti et. al., (1995), com *Prochilodus scrofa*. Os autores demonstraram a efetividade do hormônio na reprodução induzida de espécies nativas e de interesse comercial.

No momento da liberação dos ovócitos, as fêmeas de 1ª maturação gonadal do T1 e T2, que apresentaram distribuições de frequências percentuais dos diâmetros dos ovócitos com valores variando de 937,5 μ m a 1125,0 μ m (Figura 2B), responderam com sucesso aos 2 tratamentos hormonais. Observações similares às registradas, neste estudo, foram descritas por Romagosa et al., (2001) e Andrade-Talmelli et al., (2002).

Os valores obtidos foram semelhantes aos encontrados em peixes provenientes da natureza descritos por Resende et al., (1995) para esta mesma espécie, na bacia hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil, onde os autores registraram valores de 1106,0 a 1185,0 μ m, no momento em que os ovócitos estavam prontos para serem liberados.

Em relação, à posição do núcleo, os ovócitos encontravam-se 100 % com QVG, resultados que também corroboram com os de Lam (1982). Na 3ª amostra, ainda pôde-se notar que as fêmeas que receberam o T1, apresentaram ovócitos com grânulos de vitelo formando uma massa contínua de vitelo por fusão (Figuras 3C e 3D). Na Figura 3B, nota-se a presença de alvéolos corticais arranjados em camadas na periferia citoplasmática. Observações similares foram feitas por Romagosa et. al., (2000). Em relação as fêmeas que receberam o T2, pôde-se visualizar o citoplasma repleto de vitelo e na periferia os alvéolos corticais (Figs 3E e 3F).

No momento da extrusão, as estimativas das médias do peso dos ovócitos, da taxa de fertilização e do número de larvas nos T1, foram de 468 ± 154 g, $53,44 \pm 18,3$ % e $165.330 \pm 94,1$ e no T2 foram 369 ± 162 g, $54,8 \pm 11,8$ % e $158.570 \pm 20,6$ larvas, respectivamente. Deve ser ressaltado ainda que, após a indução a desova, permaneceu nos ovários aproximadamente 120 ± 30 g de ovócitos. Segundo Romagosa et al., (2001) em *Brycon cephalus* também permanecem grandes quantidades de ovócitos após à desova.

Com referência ao T3, a combinação do HC com o hCG, foi baseada na pesquisa realizada por Lam (1982). O autor relatou que a utilização de gonadotrofina associada a extratos hipofisários parece ser o método mais eficiente para potencializar a ação hormonal nas gônadas, sendo tradicionalmente, aplicado em 2 doses. As fêmeas do T3 apresentaram inicialmente o mesmo padrão de distribuição de frequência porcentual dos T1 e T2. Entretanto, a combinação de hormônios não foi eficiente para espécie, onde pode-se verificar que os valores dos diâmetros dos ovócitos não se modificaram. Pôde-se notar ainda que as fêmeas do T3 após aproximadamente 10 h da 2ª aplicação hormonal, apresentaram um acúmulo de ovócitos presos à região urogenital semelhante a um tampão. Resultados semelhantes foram descritos por Dorado Longas e Guerrero (1995), em estudos com *Prochilodus magdalene*.

Para verificar os resultados negativos do T3, as fêmeas foram sacrificadas e pôde-se observar que, macroscopicamente, os ovários apresentavam médias de peso de 680 g, ocupando toda cavidade abdominal, com ovócitos de coloração levemente amarelada, outros esbranquiçados e com aspecto sangüinolento. Histologicamente, pôde-se notar que a maioria dos ovócitos encontravam-se em fases de atresia ovariana (Figs 3G e 3H).

As análises das configurações gráficas obtidas na 2ª maturação gonadal são apresentadas na Figura 2B, onde os ovócitos que receberam o T1 apresentaram um deslocamento das modas para a direita, com valores modais de $1.062,5 \mu\text{m}$ e as do T2, com

valores bimodais de $937,5 \mu\text{m}$ e $1.125,9 \mu\text{m}$. Estas fêmeas apresentaram melhor desempenho quando comparadas às de 1ª maturação, para os T1 e T2, com peso médio dos ovócitos de $428 \pm 37 \text{ g}$ e $486 \pm 108 \text{ g}$, e taxas de fertilização mais elevadas $56,08 \pm 30,9 \%$ e $81,9 \pm 17,3 \%$ e, maior produção de larvas, 364.547 ± 244 e 633.129 ± 190 , respectivamente. No presente estudo, as observações referentes às estruturas dos ovócitos dos T1 e T2, coincidem com as encontradas por Romagosa et. al., (2000) e Romagosa et. al., (2001).

Deve-se considerar que as médias totais do número de ovócitos liberados por ciclo reprodutivo foi de 648.471 ± 116 e 706.248 ± 141 , respectivamente, no T1 e T2. Nesse sentido, nossos resultados foram similares aos encontrados por Romagosa et al., (1990) e Antoniutti et al., (1995) para *Piaractus mesopotamicus* e *Prochilodus scrofa*, respectivamente.

Pôde-se verificar na Tabela 2 que entre os tratamentos empregados, não houve diferenças significativas entre a 1ª e 2ª maturação gonadal para taxas de fertilização e número de larvas. Entretanto, em relação à 2ª maturação, pôde-se observar diferenças significativas entre os tratamentos T1 e T2 ($p > 0,05$).

A boa qualidade dos óvulos foi avaliada pelas médias das altas taxas de fertilização e posteriormente, pelo número de larvas obtidas do T2, na 2ª maturação, com o uso do hormônio hCG, indicando que este hormônio é mais eficiente na indução da reprodução de fêmeas de cachara. Sabidamente, o hCG é considerado um potente indutor a reprodução em peixes pois apresenta a vantagem de uniformizar a dosagem visando induzir à maturação e ovulação nas fêmeas (Romagosa et. al., 1990; Andrade-Talmelli et al., 2002; Lee e Yang, 2002).

Quanto ao período de latência devemos destacar que as fêmeas em 1ª maturação gonadal, nas condições do Vale do Ribeira, independente do tratamento utilizado (T1,T2,T3),

foi de 10 h, como o que vêm sendo preconizado na literatura por Romagosa et. al., (1990) e Romagosa et al., (2001), para espécies nativas de água doce. Entretanto, os ovócitos mantinham-se presos, com dificuldade de liberação no momento da desova. Desta forma, no 2º ciclo reprodutivo, optamos por obedecer um período maior do que o anterior, agora de 13 h com melhores resultados. Os reprodutores de cachara não apresentaram comportamento agressivo e nem qualquer sinal indicativo de estresse no momento da desova.

As fêmeas do T4, nas 1^{as} amostras, durante o 1º e 2º ciclos reprodutivos, apresentaram a mesma distribuição de frequência porcentual do diâmetro dos ovócitos representados nas Figura 1A e 2A. Por serem controles, os mesmos diâmetros obtidos antes das aplicações de salina foram mantidos, como era esperado.

Foi constatado no presente trabalho que, das 25 fêmeas de 1ª maturação, 86,6 % morreram após a desova. Entretanto, na 2ª maturação, como prevenção, no momento da extrusão, foi aplicada injeção intramuscular com dose única de 1mL/7 Kg, da solução de Potenay (nome comercial). Este medicamento trata-se de um complexo vitamínico de uso animal que foi recomendada por Ceccarelli e Senhorini (comunicação pessoal), obtendo-se 100 % de sobrevivência dos animais.

Com referência aos machos, Romagosa et al., (2001) relataram a importância de se observar que peixes selecionados em cativeiro geralmente estão bem preparados e que, a aplicação hormonal só deve ser feita em casos particulares, para assegurar a liberação dos gametas. O presente estudo, mostrou resultados similares, com liberação de um líquido espesso e leitoso (sêmen) de aproximadamente 8 a 9 mL. Na 1ª maturação não houve necessidade de injetar os machos entretanto, na 2ª foi necessário pois, a produção de sêmen foi menor. Observações semelhantes foram obtidas por Harvey e Hoar (1979). Todavia, quando os machos do 2º ciclo receberam uma dose de extrato de HC, apresentaram sêmen

mais fluído, com aumento do volume. O mesmo foi confirmado por Andrade-Talmelli et al., (2002), em *Brycon insignis*.

Sabe-se que em espécies migradoras de ambiente tropical há uma relação muito estreita entre o nível de água e a reprodução (Resende et al., 1995). Nos meses de estudo (janeiro e fevereiro 2001 e 2002), foram registrados 19 dias de chuva, índices de precipitação pluviométrica variando de 209,3 a 347,4 mm, e médias de temperatura da água dos viveiros externos com valores mínimos de 23,0 °C e máximos de 32,8 °C para a região do Vale do Ribeira, SP.

O monitoramento da água das incubadoras apresentou valores médios de temperatura, oxigênio dissolvido e amônia: $24,4 \pm 1,6$ °C; 8,7 mg/L e 0,1 mg/L, respectivamente. Esses valores estão dentro da faixa considerada boa para desenvolvimento da espécie.

Conclusões

- 1) A associação da característica externa anatômica como ventre abaulado com às internas como o diâmetro dos ovócitos, a posição do núcleo e características histológicas dos folículos ovarianos, nos forneceu informações mais precisas para determinar o grau de desenvolvimento dos ovócitos e o momento ideal da aplicação de hormônios;
- 2) Fêmeas reprodutoras de cachara que apresentaram o padrão de distribuição de frequência porcentual dos diâmetros dos ovócitos com moda maior ou igual a 937,5 μm , nas 1^{as} amostras, foram capazes de responder positivamente à indução hormonal (HC ou hCG);
- 3) O hCG foi mais eficaz em relação ao HC na indução à desova de fêmeas de cachara;
- 4) Fêmeas de 2^a maturação gonadal apresentaram melhor desempenho reprodutivo com o hCG, obtendo taxas de fertilização mais elevadas e maior número de larvas, quando comparadas as de 1^a maturação.
- 5) A combinação de HC + hCG não foi adequada ao cachara *P. fasciatum* nas condições deste experimento.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE-TALMELLI, E. F., KAVAMOTO, E. T., NARAHARA, M. Y., FENERICH-VERANI, N., 2002. Reprodução Induzida da piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) (Characiformes, Bryconinae), mantida em confinamento. R. Bras. Zootec. 31, 803-811 (suplemento).
- ANTONIUTTI, D. M., NARAHARA, M. Y., ROMAGOSA, E., 1995. Reprodução induzida e custo operacional de produção de alevinos de curimbatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881). Bol. Inst. Pesca 22, 41-47.
- BRZUSKA, E., 1979. The in vivo method of estimating the stages of oocytes maturation in carp (*Cyprinus carpio L.*). Acta Hydrobiol. 21, 423-433.
- DORADO LONGAS, M. D. P., GUERRERO, L., 1995. Optymización de una dosis hormonal para la reproducción inducida del bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1878). Boletín Científico INPA 3, 29-39.
- FENERICH, N. A., GODINHO, H. M., BARKER, J. M. B., 1974. Sobre a ocorrência de ovulação de *Rhamdia hilarri*, *Pimelodus maculatus*, *Salminus maxillosus*, em laboratório. Ciência e Cultura 26; 344.
- FENERICH-VERANI, N., NARAHARA, M. Y., GODINHO, H. M., 1984. The size composition of eggs of curimbatá *Prochilodus scrofa*, Steind., 1881, induced to spawn human chorionic gonodotropin (HCG). Aquaculture 42, 37-41.
- FREIRE-BRASIL, D., 2001. Análise estrutural e ultra estrutural da maturação final do ovócito, fertilização e primeira clivagem em curimbatá, *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836. Jaboticabal, SP. Tese. UNESP/CAUNESP. p. 76.

- GODINHO, H. M., FENERICH, N. A., NARAHARA, M. Y., BARKER, J. M. B., 1977. Sobre a reprodução induzida do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). *Ciência e Cultura* 29, 796-797 (suplemento).
- HARVEY, B. J., HOAR, W. S., 1979. The theory and practice of induce breeding in fish., International Development Research Center - IDRC, (TS21e).
- KUNKEL, H., FLORES, S., 1996. Estructura histológica de los ovarios de *Pseudoplatystoma coruscans* (AGASSIZ, 1829). Pimelodidae. Siluriformes. *Bol. Inst. Pesca* 23, 203-212.
- LAM, T. J., 1982. Applications of endocrinology to fish culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39, 111-137.
- LEE, W. K., YANG, S. W., 2002. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroids hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Lateobrax maculatus*. *Aquaculture* 207: 169-183.
- MIRANDA, M. O. T., 1997. Surubim. Belo Horizonte: IBAMA 01-155 (Coleção Meio Ambiente, Série Estudos Pesca, 19).
- NAGAHAMA, Y., 1983. The funcional morphology of teleosts gonads. In: HOAR, W. S., RANDALL, D. J., DONALDSON, E. M., (eds). *Fish Physiology*, v. 9 A, p. 223-64, Academic Press, London.
- NARAHARA, M., GODINHO, H. M., ROMAGOSA, E., 1985. Estrutura da população de *Rhamdia hilarii* (Val., 1840) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae). *Bol. Inst. Pesca* 12; 123-137.

- RESENDE, E. K. de., CATELLA, A. C., NASCIMENTO, F. L., PALMEIRA, S. da. S., ALMEIDA, V. L. L. de., 1995. Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil, Corumbá, M.S: EMBRAPA – CPAP, Boletim de Pesquisa 02, 75.
- REYES, A. O., HUQ, M. F., 1990. Algunos aspectos reproductivos del bagre rayado, *Pseudoplatystoma fasciatum*, Linnaeus, 1776 (Pisces: Pimelodidae) en la laguna grande, Maturin, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela. Univ. Oriente 29, 133-140.
- ROMAGOSA, E., ANDRADE-TALMELLI, E. F., PAIVA, P., GODINHO, H. M., BATLOUNI, S. R., 2000. Observações preliminares sobre o comportamento reprodutivo das fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, na região do Vale do Ribeira, SP, em condições de confinamento. Braz. J. morphol. Sci. 17, 224 (suplemento).
- ROMAGOSA, E., NARAHARA M.Y., BORELLA, M. I., FENERICH-VERANI, N., 2001. Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. Bol. Inst. Pesca 27, 113-121.
- ROMAGOSA, E., PAIVA, P. de., GODINHO, H. M., ANDRADE-TALMELLI, E. F., Características morfométricas e crescimento do cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), mantido em confinamento. Scientia Agrícola (prelo).
- ROMAGOSA, E., PAIVA, P., GODINHO, H. M., 1990. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (*Colossoma mitrei* Berg, 1895) induced to spawn. Aquaculture 86, 105-110.
- SIMPSON, A. C., 1951. The fecundity of the plaice. Fish. Invest. 5, 1-27.
- von IHERING, R., AZEVEDO, P., 1936. A desova e a hipofiseação dos peixes. Evolução de dois Nematognathas. Arch. Inst. Biol. 7, 107-18.

WOYANORÓVICH, E., HORVATH, L., 1983. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais*. Manual de Extensão. V.M. CHAMA (trad.). FAO-CODEVASF-CNPq, Brasília, DF. 220p.

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

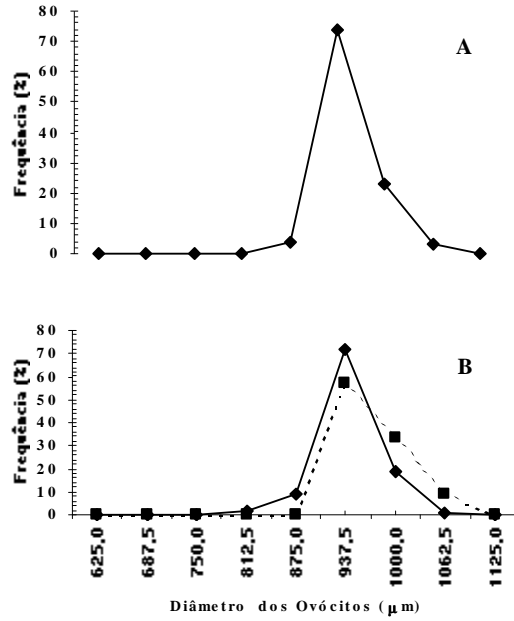


Figura 1: Distribuições das frequências percentuais dos diâmetros dos ovócitos de fêmeas em 1^a maturação gonadal A) 1^a amostra (linha contínua); B) 3^a amostra (T1 - -●- -, T2 - -■- -)

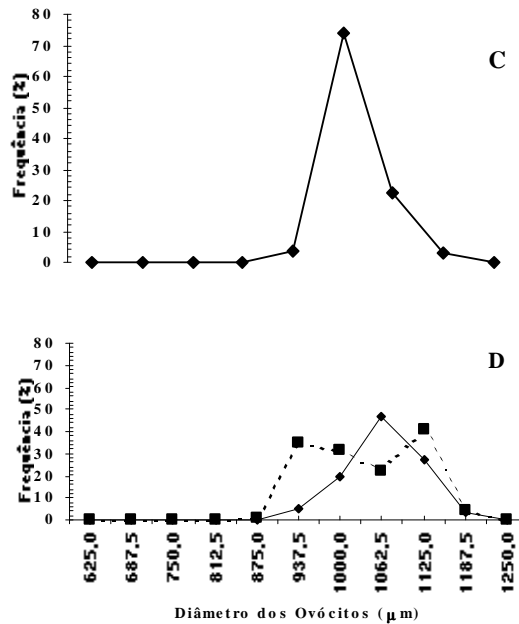


Figura 2: Distribuições das frequências percentuais dos diâmetros dos ovócitos de fêmeas em 2^a maturação gonadal A) 1^a amostra (linha contínua); B) 3^a amostra (T1 - -◆- -, T2 - -■- -)

Tabela 1: Dados dos valores médios (\pm desvio padrão) de comprimento (cm) e peso (Kg) de fêmeas e de machos, durante dois ciclos reprodutivos, em cativeiro

	1 ^a maturação gonadal		2 ^a maturação gonadal	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Lt (cm)	64,6 \pm 5,0	59,0 \pm 2,0	64,9 \pm 4,3	59,2 \pm 1,8
Wt (Kg)	2,6 \pm 0,3	1,5 \pm 0,1	2,4 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2

Tabela 2. Dados de valores médios (\pm desvio padrão) das taxas de fertilização, número de larvas

	Taxa de Fertilização (%)		Número de larvas	
	1 ^a maturação gonadal	2 ^a maturação gonadal	1 ^a maturação gonadal	2 ^a maturação gonadal
Tratamentos				
T1	53,44 \pm 18,3 a	56,08 \pm 30,9	165.330 \pm 94,1	334.545 \pm 244
(HC)	A	a A	a A	a A
T2	54,81 \pm 11,8 a	81,94 \pm 17,3	158.570 \pm 20,6	633.129 \pm 190
(hCG)	B	a A	a B	a A

cada linha (coluna) médias seguidas de mesma letra maiúscula (minúscula) não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

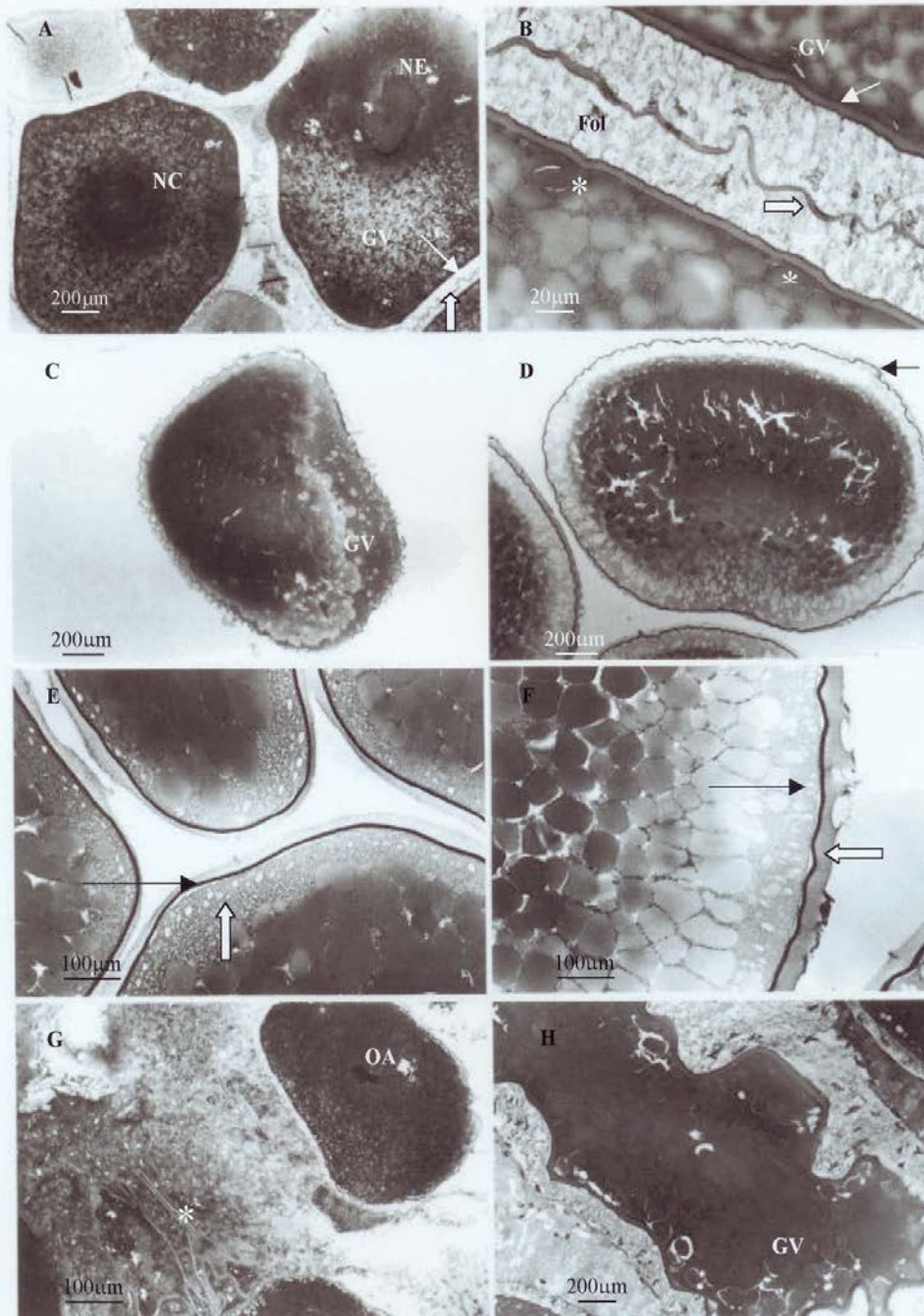
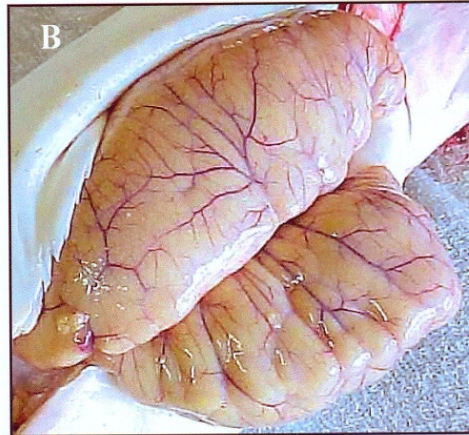
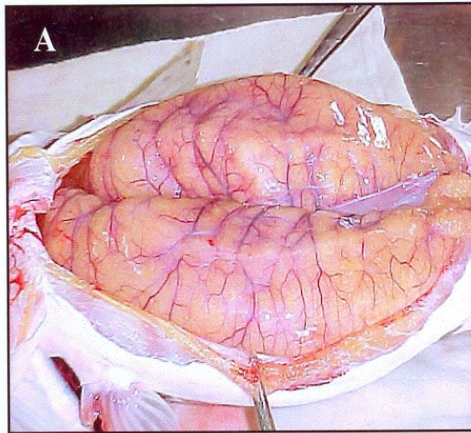
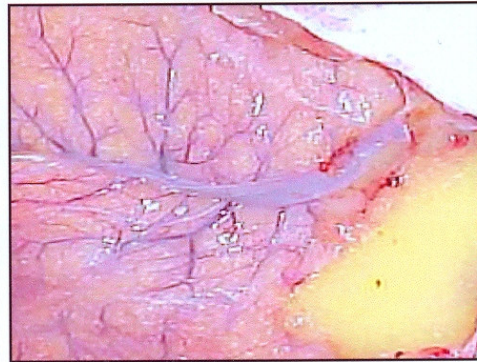
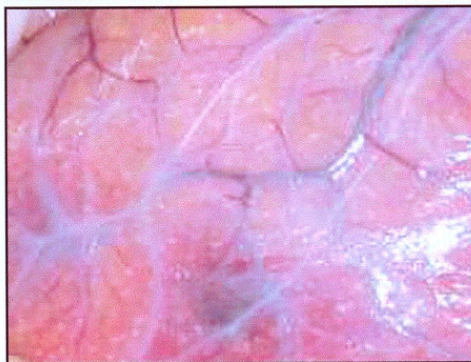
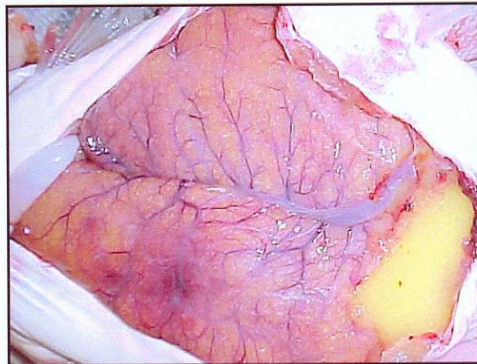
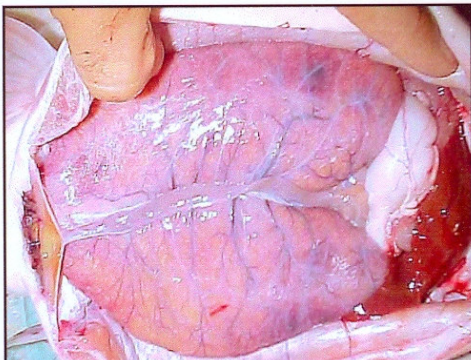


FIGURA 3 **A - B:** 1^o Amostra de ovócitos antes da aplicação hormonal, **A)** núcleo central (NC) e núcleo excêntrico (NE), grânulos de vitelo (GV), zona radiata (seta fina), e camada folicular (seta grossa); **B)** detalhe dos grânulos de vitelo (GV), zona radiata (seta fina), camada folicular (Fol) e teca (seta grossa); 3^o Amostra de ovócitos no momento da liberação **C - H:** **C)** grânulos de vitelo (GV); **D)** ausência da camada folicular em algumas partes do ovócito (seta fina); **E)** zona radiata (seta fina), alvéolos corticais (seta grossa); **F)** alvéolos corticais (seta fina) e resquícios da camada folicular (seta grossa); **G)** ovócitos em início de atresia (AO) e atresia final (*); **H)** ovócitos em fase adiantada de atresia (OA) e zona radiata com ondulações (seta fina).

APÊNDICE



Ovários de Cachara *Pseudoplatystoma fasciatum*, que não receberam tratamento hormonal



Ovários de Cachara *Pseudoplatystoma fasciatum*, que receberam tratamento hormonal e não desovaram apresentando aspecto flácido e hemorrágico



Figuras: **A)** Represa de abastecimento da Estação de Piscicultura, **B)** Viveiros externos **C)** Laboratório de Reprodução Induzida **D)** Captura das matrizes através com redes de arrastos **E)** Selecionando através das características externas machos e fêmeas **F)** Transporte **G)** Fêmea com características externas apta a reprodução **H)** Foto lateral mostrando o ventre abaulado **I)** Cortando o acúleo pontiagudo **J)** Preparação das caixas dos reprodutores **L)** Vista frontal da fêmea **M)** Caixa dos reprodutores com fluxo d'água contínuo **N)** Canulação **O)** Injetando Hormônio **P)** Coleta de ovócitos.



Figuras: **A)** Liberação dos ovócitos, **B)** Coleta dos ovócitos em recipiente de plástico, **C)** e **D)** Extrusão, **E)** Adicionando sêmen sobre os ovócitos, **F)** Homogeneização do sêmen e ovócitos com auxílio de uma pena, **G)** Adição de água sobre a massa homogeneizada, **H)** Ovos hidratando, **I)** Coleta de ovos, **J)** Colocando os ovos na incubadora.