

ARTIGO

Desova Induzida do Lambari *Deuterodon iguape* com Extrato Hipofisário de Carpa

Mauro Cornacchioni Lopes¹, Newton José Rodrigues da Silva², Luiz Miguel Casarini¹,
Fernando Henrique Agostinho dos Santos Barbosa Gonçalves¹, Marcelo Barbosa Henriques¹

¹Instituto de Pesca de São Paulo.

²Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI/SAA/SP)

E-mail: henriquesmb@pesca.sp.gov.br

Recebido em: 07/12/2012 - Aceito em 28/06/2013 - Distribuído em: 25/11/2013

RESUMO: Em atendimento a uma demanda de produtores locais, o objetivo deste trabalho foi testar procedimentos básicos para a reprodução artificial do lambari *Deuterodon iguape*, coletado na bacia do rio Itanhaém, litoral sul do estado de São Paulo. Durante o período de julho a dezembro de 2011, foram replicados dois tratamentos nas fêmeas: I - dose única de extrato hipofisário de carpa de 6 mg kg⁻¹; II - duas doses de extrato hipofisário, sendo a preparatória de 0,6 mg kg⁻¹ e a decisiva de 6,0 mg kg⁻¹, com dez horas de intervalo. Os machos receberam dose única de extrato hipofisário de 2,0 mg kg⁻¹, após a última aplicação nas fêmeas. As taxas de respostas positivas (desova) foram de 47,73% no tratamento com duas doses e 9,09% no de dose única de extrato hipofisário. A quantidade média de pós-larvas produzidas por fêmea foi de 575 no tratamento com dose única e 1071 no tratamento com duas doses. O tratamento com duas doses de extrato hipofisário de carpa foi mais vantajoso, pois além de ter obtido maior porcentagem de fêmeas que desovaram, quase dobrou a quantidade de pós-larvas produzidas por fêmea.

Palavras-chave: Hipofisção, piscicultura, reprodução artificial

Induced Spawning of Lambari *Deuterodon iguape* With Carp's Pituitary Extract

ABSTRACT: In attending a local producers' demand, the objective of this piece of work was to test basic procedures for artificial reproduction of the lambari *Deuterodon iguape*, gathered in the South Litoral of the São Paulo State – Brazil. During the period of July to December of 2011, were replied two treatments for females: I - single dose of carp's pituitary extract of 6.0 mg kg⁻¹; II - two doses of pituitary extract, being the preparatory of 0.6 mg kg⁻¹ and the decisive 6.0 mg kg⁻¹, by ten hours of interval. The males received 2.0 mg kg⁻¹ of pituitary extract, after the last dose of females. The rates of positive responses were 47.73% in the two doses of pituitary extract treatment and 9.09% in the single dose treatment. The averages of post-larva productions for utilized female were 575 in the single dose treatment and 1071 in the two doses treatment. The treatment with two doses of pituitary extract reveal to be more profitable for to induce spawning, because it has obtained the highest percentage of females that spawned, almost doubled the amount of post-larvae produced per female.

Keywords: Hypophysation, fish culture, artificial reproduction

Introdução

Entre as espécies nativas com potencial para a piscicultura, algumas de pequeno porte da família Characidae, popularmente conhecidas como lambaris, têm recebido maior atenção devido a características zootécnicas favoráveis para produção em cativeiro (PORTO-FORESTI; CASTILHO-ALMEIDA; FORESTI, 2005). Sua criação pode ser considerada promissora sob aspectos econômicos e ecológicos (GARUTTI, 2003).

No litoral sul do estado de São Paulo, conflitos ambientais relacionados às formas de uso das propriedades rurais, geralmente situadas no interior ou no entorno do Parque Estadual Serra do Mar, desencadearam a mobilização de produtores e agentes de assistência técnica rural, decorrendo a demanda por ações de pesquisa-desenvolvimento em práticas sustentáveis de piscicultura, como alternativas aos modelos convencionais em curso na região (SILVA, 2008).

Nesse cenário, surgiu a hipótese do lambari D.

iguape possuir maior potencial de mercado dentre as espécies de peixes da Serra do Mar. Assim, essa espécie foi selecionada pelos piscicultores, que iniciaram a captura de alevinos nos riachos locais, para engorda em viveiros. Essa captura não foi suficiente para sustentar a produção comercial e, conseqüentemente, expandir a atividade.

Deuterodon iguape (Eigenmann 1907) é uma espécie endêmica de pequenos rios e riachos costeiros do estado de São Paulo (OYAKAWA et al., 2006) e apesar de já ser estudada, principalmente no que se refere à sua sistemática e ecologia em ambiente natural (LUCENA; LUCENA, 1992 e 2002), pesquisas relacionadas à produção em cativeiro são inexistentes.

Inserido no contexto socioeconômico e ambiental, este estudo objetivou testar a desova induzida de *D. iguape* com a utilização de diferentes dosagens de extrato hipofisário de carpa.

Material e métodos

Os animais destinados à reprodução foram capturados em riachos da zona rural de Mongaguá, bacia do rio Itanhaém, município do litoral sul do estado de São Paulo (Figura 1).

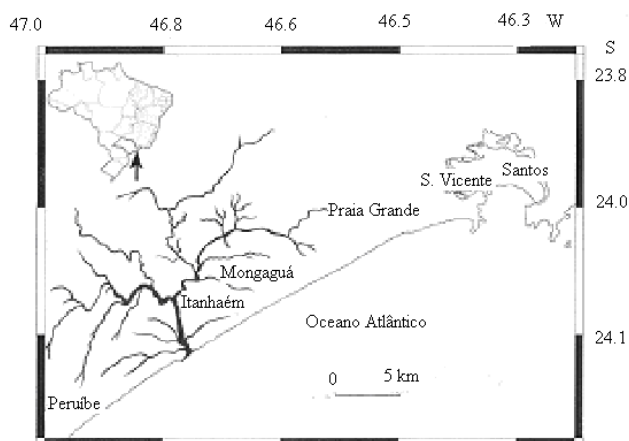


Figura 1. Mapa do litoral sul paulista, com a localização da microbacia do rio Itanhaém e do município de Mongaguá, onde os reprodutores do lambari *D. iguape* foram capturados e o experimento conduzido em laboratório.

Fonte: Adaptado de NGDC – National Geophysical Data Centre.

Após a captura, os peixes foram estocados com segregação de sexos, em viveiros escavados, na densidade de 140 g m⁻², e alimentados duas vezes ao dia, com ração comercial extrusada para alevinos de peixes tropicais, contendo 32% de proteína bruta e 3000 kcal de energia bruta.

Entre os meses de julho a dezembro de 2011, foram realizados onze experimentos de desova induzida, utilizando-se a infraestrutura da estação de piscicultura municipal de Mongaguá (SP). Para as fêmeas, foram testados dois tratamentos com quatro repetições: I – extrato bruto de hipófise de carpa em

dose única de 6,0 mg kg⁻¹ com aplicação às 18 h e II – extrato bruto de hipófise de carpa em duas doses, de 0,6 e 6,0 mg kg⁻¹, com intervalo de dez horas entre as aplicações, a primeira às 14 h e 30 min e a segunda às 00 h e 30 min. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) para avaliar diferenças significativas nos tempos de desova entre as fêmeas que obtiveram respostas positivas, nos dois tratamentos. Quando diferenças estatísticas foram observadas, aplicou-se o teste de Tukey ao nível de 95%.

Para a reprodução, utilizaram-se grupos compostos por dois machos para cada fêmea, contidos em hapas flutuantes, em arranjos de quatro unidades, instalados em tanques de 1000 L, totalizando 44 fêmeas para cada tratamento em cada experimento. Todos os machos, independente do tratamento, receberam dose única de 2 mg kg⁻¹ de extrato hipofisário de carpa. No tratamento II a aplicação nos machos foi feita logo após a segunda dose nas fêmeas. As injeções de extrato hipofisário foram aplicadas intraperitonealmente, junto à base da nadadeira peitoral, com seringas hipodérmicas de 0,3 mL.

A seleção de fêmeas aptas aos procedimentos de indução à desova foi realizada principalmente por meio da observação dos caracteres sexuais externos, indicativos de maturação, tais como: abdômen levemente abaulado, papila urogenital intumescida e vascularização, com leve avermelhamento, das regiões pélvica e escapular. Com o objetivo de monitorar o processo de maturação ovocitária, eventualmente foram realizadas amostragens de ovócitos para observação das características macroscópicas internas indicadoras de maturação, segundo Vazzoler (1996), utilizando um cateter de 1,4 mm de diâmetro interno e Líquido de Serra como solução clareadora de citoplasma.

Os machos foram selecionados por meio da observação de fluência de sêmen por leve compressão da papila urogenital. Também se adotou o critério de buscar seleções de grupos com peso médio de maior homogeneidade, 37 ± 4 e 26 ± 3 g para fêmeas e machos, respectivamente.

A vazão da água nos tanques foi mantida constante em 5,0 L min⁻¹ e a aeração foi regulada para manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido no interior das hapas entre 7,9 e 8,1 mg L⁻¹. Durante as fases de indução à desova e larvicultura, a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH da água foram monitorados, diariamente, por instrumentação digital.

Detectada a desova, os reprodutores foram retirados e os ovos mantidos e incubados nas próprias hapas. O tempo necessário para a ocorrência de desova foi estimado, sendo a contagem feita a partir do horário da dosagem única de fêmeas no tratamento I e horário da primeira dose nas fêmeas no tratamento II.

As porcentagens de fêmeas que desovaram foram determinadas pela razão entre o total de fêmeas que desovaram e o total de fêmeas submetidas aos

tratamentos, multiplicado por cem. As taxas de fertilização foram determinadas após o fechamento do blastóporo, fase do desenvolvimento embrionário observada sob estereomicroscópio (40×). Realizaram-se contagens diferenciais de, no mínimo, 260 ovos, sendo as estimativas obtidas por meio do cálculo da razão entre ovos normais e o total de ovos coletados, multiplicado por cem.

As estimativas de porcentagens de larvas deformadas foram obtidas pela razão entre a quantidade de larvas deformadas e o total de larvas observadas, sendo realizadas por meio da coleta de amostras de larvas recém-eclodidas, fixadas em formol a 4%, para identificação e quantificação posteriores. Foram obtidas oito amostras por tratamento, em cada teste realizado e analisadas 1346 larvas.

No final da fase de incubação, após a insuflação da bexiga gasosa e obtenção de nado ordenado pelas pós-larvas (WOYNAROVICH; WOYNAROVICH, 1998), três a quatro dias após a desova, as quantidades de pós-larvas produzidas em cada hapa, segundo os tratamentos, foram contadas, viabilizando a estimativa de pós-larvas produzidas por fêmea utilizada (PLF) em cada tratamento.

Com o propósito de verificar quais fatores influenciaram significativamente para a variável dependente PLF, foi utilizada análise de covariância - ANCOVA (HUITEMA, 1980) para os fatores, tendo como covariável a temperatura da água, que intencionalmente não foi controlada no laboratório, para que sua influência fosse avaliada no processo de reprodução induzida. Dessa forma, foi testado o modelo: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + \text{interações} + \epsilon_{ij}$, onde Y_{ijk} = variável dependente (PLF) das fêmeas i , no tratamento j e temperatura da água k , μ = constante (média populacional), as variáveis independentes α_j = Tipo de tratamento, β_k = Temperatura da água e ϵ_{ijk} = a componente de erro aleatório.

Foi realizada análise de regressão, tendo como variável explanatória a temperatura da água e variável resposta o número de PLF, com ajuste pelo método dos mínimos quadrados (ZAR, 1996).

Resultados e discussão

Entre os tratamentos testados, o que proporcionou maior número de respostas positivas (desovas) foi o que utiliza duas doses de extrato hipofisário, em que 47,73% das fêmeas responderam à indução.

Woynarovich e Horváth (1989) descreveram a forma mais convencional de aplicação de extrato hipofisário, a qual consiste em dividir a aplicação em duas doses. A primeira, preparatória, representando 10% da dosagem total, e a segunda, final, aplicada de 10 a 14 h depois.

Entretanto, em duas espécies de lambaris da bacia do rio São Francisco (*Astyanax bimaculatus* e *Tetragonopterus chalseus*), aplicando a mesma dosagem única de extrato hipofisário, de 6,0 mg kg⁻¹, utilizada no presente estudo, Sato et al. (2006) observaram que mais de 70% das fêmeas de ambas as espécies responderam positivamente ao tratamento. Porém, para *D. iguape*, no tratamento com uma dose, apenas 9,09% das fêmeas responderam à indução (Tabela 1).

Os tempos de desova dos dois tratamentos apresentaram diferença significativa (ANOVA: $p = 0,01$). Os grupos submetidos ao tratamento I, com aplicação única de extrato hipofisário, desovaram de 10,45 a 15,00 h após o início do tratamento (Tabela 1), sob temperaturas médias de 26 a 20 °C, respectivamente, valores próximos dos resultados obtidos por Sato et al. (2006), de 11,00 h a 26 °C e Miranda et al. (1999), de 13,56 h a 23 °C, pelo mesmo procedimento, com a espécie *Astyanax bimaculatus*. As fêmeas submetidas ao tratamento II desovaram de 19,15 a 21,36 horas após a aplicação da primeira dose nas mesmas faixas de temperatura.

O fechamento do blastóporo ocorreu entre 6 e 8 h após a desova, nas temperaturas médias de 26 e 20 °C, respectivamente, sendo que as taxas de fertilização médias foram de 77,21% no tratamento I e 79,59% no tratamento II (Tabela 1).

Durante todo o período de experimentos não houve mortalidade de reprodutores em nenhum dos

Tabela 1. Respostas positivas, consumo de tempo dos tratamentos aplicados na indução à desova das fêmeas do lambari *D. iguape*, fertilização e deformação das larvas durante a fase de incubação, no período de 27/07/2011 a 01/12/2011, onde DU = dose única de extrato bruto de hipófise de carpa; DD = duas doses de extrato bruto de hipófise de carpa; N = número médio de fêmeas que desovaram, erro padrão da média entre parênteses. PLF = Pós-larvas produzidas por fêmea; Máx. = máximo; Mín. = mínimo; Méd. = média.

Tratamento	Resposta positiva		Consumo de tempo (horas)			Fertilização (%)	Deformação (%)	PLF N°
	N°	%	Máx.	Mín.	Médio			
I – DU	4,31 ^a (1,64)	9,09	15,00	10,45	12,72 ^a (1,07)	77,21 ^a (12,67)	16,49 ^a (3,21)	575(167)
II - DD	21,14 ^b (3,52)	47,73	21,36	19,15	19,10 ^b (0,74)	79,59 ^a (10,28)	17,45 ^a (2,34)	1071(214)

^a Valores com sobrescritos diferentes em uma mesma coluna são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

tratamentos. As quantidades de pós-larvas produzidas por fêmea utilizada (PLF) em ambos os tratamentos foram de 575 ± 167 e 1071 ± 214 , respectivamente para os tratamentos I e II (Tabela 1).

Os parâmetros físicos e químicos de qualidade da água, monitorados durante as fases de indução hormonal e incubação, apresentaram médias que foram consideradas estáveis nos casos do oxigênio dissolvido ($7,47 \pm 0,45$ mg L⁻¹) e do pH ($6,65 \pm 0,72$).

Independente dos tratamentos com hipofisacção, o modelo estatístico indicou a temperatura da água como único fator de alta significância ($F_{0,05(2)1,11} = 28,01$; $p = 0,001$; $r^2 = 0,73$) na quantidade de PLF.

A análise de regressão linear apresentou a equação: $PLF = 8.710 - 329 T(^{\circ}C)$ e foi significativa (ANOVA: $F_{0,05(2)1,11} = 21,23$; $p = 0,001$; $r^2 = 0,67$). Observa-se também forte correlação negativa ($r = -0,84$) entre temperatura da água e número de PLF (Figura 2).

Dentro dos limites fisiológicos de cada espécie,

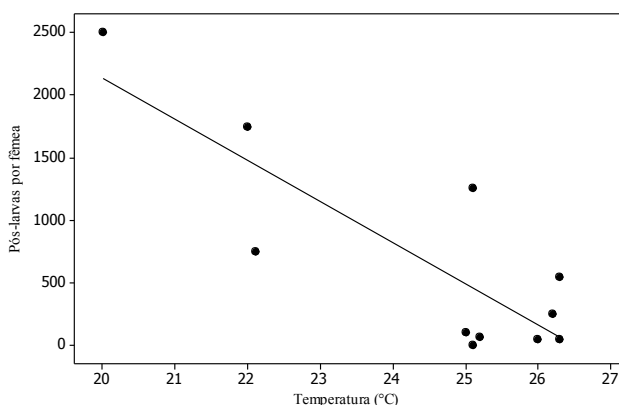


Figura 2. Regressões entre a temperatura da água ($^{\circ}C$) e a quantidade de pós-larvas produzidas por fêmea (PLF) do lambari *D. iguape*, no período de 27/07/2011 a 01/12/2011, Mongaguá, litoral paulista.

temperaturas mais altas geralmente aceleram os processos de desova e desenvolvimento embrionário, sem quaisquer efeitos adversos. Fora desses limites, temperaturas altas e baixas são desfavoráveis e podem afetar o sucesso da desova e a qualidade da progênie (MYLONAS; FOSTIER; ZANUI, 2010).

As principais deformações observadas em larvas recém-eclodidas foram torções da notocorda. Observaram-se ainda larvas muito pequenas, nascidas prematuramente, com cabeça e cauda incompletas e hipotrofia do saco vitelínico.

A qualidade dos gametas dos peixes, tanto no ambiente natural quanto no cativeiro, pode ser influenciada por um grande número de fatores, frequentemente inerentes ao estado e condicionamento dos reprodutores, tais como nutrição, temperatura, fotoperíodo, estresse, exposição a fatores xenobióticos, genética, sanidade, entre outros, que muitas vezes podem ser relacionados às práticas de manejo dos plantéis em cativeiro (BOBE; LABÉ, 2010).

Os processos fisiológicos envolvidos nas fases de vitelogenese, maturação final e desova são fortemente ligados aos processos fisiológicos desencadeados pelo estresse, sendo que desajustes nas variáveis ambientais, tais como temperatura da água, intensidade luminosa e, particularmente, a nutrição dos reprodutores, têm sido reportados como os principais fatores que afetam o período reprodutivo, a resposta às terapias hormonais, bem como a qualidade dos gametas gerados (SHRECK; CONTRERAS-SANCHEZ; FITZPATRICK, 2001).

Segundo o mesmo autor, o estresse ambiental de reprodutores mantidos em cativeiro pode desencadear estresse nutricional, fazendo com que os peixes passem a direcionar a energia obtida dos alimentos para manutenção do metabolismo, ao invés de para maturação gonadal e reprodução.

Mylonas, Fostier e Zanui (2010) discutiram sobre as principais disfunções reprodutivas que podem ocorrer nos reprodutores de peixes, especialmente das espécies em processo inicial de domesticação, quando as condições ideais do cativeiro ainda são pouco conhecidas, como é o caso do lambari *D. iguape*, sendo comum todo ou parte do plantel não conseguir atingir o estágio final de maturação, situação que pode ter ocorrido e influenciado os resultados do presente estudo.

Conclusão

Apesar de possibilitar economia de tempo e, conseqüentemente, de água, energia elétrica e mão-de-obra, o tratamento mais simples, com dosagem única, foi muito menos eficaz para a indução à desova de *D. iguape* que o tratamento com duas dosagens, que obteve maior porcentagem de fêmeas que desovaram e praticamente o dobro do número de pós-larvas produzidas por fêmea.

Referências

- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, n.3, p. 535-548, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>>
- GARUTTI, V. *Piscicultura ecológica*. São Paulo: UNESP, 2003. 332p.
- HUITEMA, B.H. *The analysis of covariance and alternatives*. New York: John Wiley & Sons, 1980. 445 p.
- LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. Revisão das espécies do gênero *Deuterodon*, Eigenmann, 1907 dos sistemas costeiros do sul do Brasil, com a descrição de quatro espécies novas (*Ostariophysi*, *Characiformes*, *Characidae*). *Comun. Mus. Ciênc.*

Tecnol. PUCRS, Sér. Zool., Porto Alegre, v.5, n.9, p.123-168, 1992.

LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. Redefinição do gênero *Deuterodon*, Eigenman (Characiformes: Characidae). *Comun. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, Sér. Zool. Porto Alegre*, v.15, n.1, p.113-159, 2002.

MIRANDA, A. C. L. ; BASOLI, N. ; RIZZO, E. ; SATO, Y. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. *Tissue and Cell*, v.31, n.5, p.480-488, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1054/tice.1999.0045>.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUI, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, v.165, n.3, p.516-534, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>

OYAKAWA, O. T.; AKAMA, A.; MAUTARI, K. C.; NOLASCO, J. C. Peixes de riachos da Mata Atlântica nas unidades de conservação do Vale do Rio Ribeira de Iguape no Estado de São Paulo. São Paulo: Ed. Neotrópica, 2006. 221p.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, 2005, p.105-120.

SATO, Y.; SAMPAIO, E. V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. Biologia Reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. Curitiba, v.23, n.1, 2006. p. 267-273. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752006000100021>.

SHRECK, C. B.; CONTRERAS-SANCHEZ, W.; FITZPATRICK, M. S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, v.197, p.3-24, 2001. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00580-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00580-4).

SILVA, N.J.R. Dinâmicas do desenvolvimento da piscicultura e políticas públicas: análise dos casos do Vale do Ribeira (SP) e do Alto Vale do Itajaí (SC). São Paulo: UNESP, 2008. 240 p.

VAZZOLER, A.E.M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos. Maringá: EDUEM, São Paulo: SBI, 1996. 169p.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. A

propagação de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1989. 225p.

WOYNAROVICH, E.; WOYNAROVICH, A. Reproducción artificial de las especies *Colossoma* y *Piaractus*: una guía detallada para la producción de alevinos de gamitana, paco y caraña. FONDEPES – Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. Lima, Peru: Taller Ed., 1998. 67p.

ZAR, J.H. Biostatistical analysis. 3rd Ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 662p.