

## REPRODUÇÃO INDUZIDA DE LAMBARI (*Astyanax* sp.) COM EXTRATO HIPOFISÁRIO DE TILÁPIA, DE FRANGO E DE RÃ

**Alan da Rocha Moulin<sup>1</sup>, João Paulo dos Santos Braga<sup>1</sup>, César Ademar Hermes<sup>2</sup>,  
Atanásio Alves do Amaral<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Campus de Alegre/Seção de Aquicultura, Rua Principal, s/n, CEP 29500-000, Rive, Alegre – ES, alanmoulin@hotmail.com, joaopaulobraga2009@hotmail.com, atanasio@ifes.edu.br

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Campus Piúma/Rua Augusto Costa de Oliveira, 660 – Praia Doce, CEP: 29285-000, Piúma - ES, cahermes@ifes.edu.br

**Resumo** - O presente trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade do uso de extrato de hipófise de frango (EHF), de tilápia (EHT) e de rã (EHR) na indução do lambari (*Astyanax* sp.) à reprodução, comparando-se os resultados com aqueles normalmente obtidos com o extrato de hipófise de carpa (EHC). Os lambaris foram divididos em 6 lotes de 20 animais, cada lote contendo 15 machos e 5 fêmeas, sendo 3 tratamentos, com 2 repetições cada: T1: extrato bruto de hipófise de frango (EHF); T2: extrato bruto de hipófise de tilápia do Nilo (EHT); T3: extrato bruto de hipófise de rã touro (EHR). Para o controle foi utilizada hipófise de carpa (EHC). Com a utilização de EHF e EHT, apenas 20% das fêmeas desovaram, mas com a utilização de EHR, o sucesso foi de 60%. Concluiu-se que o EHR é a melhor opção para a substituição do EHC, na indução à reprodução.

**Palavras-chave:** reprodução induzida, extrato de hipófise, *Astyanax* sp

**Área do Conhecimento:** Ciências Agrárias / Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca

### Introdução

A elevação da temperatura da água e o aumento do fotoperíodo são os primeiros sinais indicando a aproximação da época reprodutiva. As cheias provocam alterações químicas na água e inundam as margens dos rios e as várzeas, formando lagoas marginais, berçários naturais dos peixes nativos.

Na natureza existem espécies que necessitam de migração para que o organismo possa liberar os hormônios relacionados à reprodução (espécies reofílicas) e outras que se reproduzem em ambiente natural sem que haja migração (espécies não reofílicas). Em cativeiro as espécies reofílicas necessitam de artifícios para a reprodução; um destes seria a utilização do extrato de hipófise, cujo valor se encontra elevado no mercado. É necessário, portanto, encontrar alternativas que possam minimizar o custo da produção de alevinos. Isso aumentaria o retorno financeiro dos produtores, mantendo a qualidade do produto final e a eficiência do processo.

Estudos têm sido realizados com a utilização de produtos alternativos para a indução de peixes à reprodução. Hormônios sintéticos e outros tipos de hipófise, como de frango, de coelho e de pato, entre outras, vem sendo testados com resultado satisfatório (SOUZA et al, 2003; SILVA et al, 1997; NWADUKWE, 1993), sendo necessário identificar quais espécies aceitariam esses indutores, pois

apesar de todos os estudos na área, algumas espécies não apresentam resposta satisfatória quando induzidas com os hormônios testados.

A técnica da reprodução induzida, conhecida como hipofisação, que consiste na injeção de extrato de hipófise para induzir a desova, foi elaborada em 1934, por Rodolpho Von Ihering. Ele aplicou extrato de hipófise de outros peixes na curimatã (*Prochilodus argenteus*) (SALLUN, 2002). Em 1983 a Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco e do Vale do Parnaíba (CODEVASF) importou da Hungria um pacote tecnológico sobre reprodução artificial por meio da hipofisação. A partir daí foram feitas adaptações, utilizadas nas espécies brasileiras e difundidas por todo o país.

Para que haja a maturação final dos óvulos e a desova dê reofílicas mantidas em cativeiro espécie, podem ser utilizados extratos de hipófise, Gonadotrofina coriônica Humana (HCG) ou Hormônios Liberadores de Hormônios Luteinizantes (LHRH) (ROSSI, 1996; SALLUN, 2002).

A hipofisação é uma técnica simples e eficaz na indução de peixes (DONALDSON; HUNTER, 1983). Portanto conhecer novas técnicas para reprodução induzida de peixes é muito importante (MENIN, 1992).

O uso de hormônios alternativos na indução à desova vem sendo cada vez mais utilizado, visto que a alternativa mais usual hoje em dia é a

aplicação de extratos de hipófises de carpa e salmão, os quais possuem custo elevado (RIBEIRO FILHO, 1998). Portanto, o processo de reprodução induzida por meio de extratos hipofisários de rã, de frango e de tilápia passa a ser um recurso para estimular a prática da reprodução de peixes (RIBEIRO FILHO, 1994).

Hipófises de ave vêm sendo sistematicamente pesquisadas no Brasil, tendo sido testadas na tenca (*Tinca tinca*) (AMARAL Jr., 1995), na curimatã (*Prochilodus lineatus*) (SILVA et al., 1997), em fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (BARROSO, 1999) e em machos e fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (STREIT Jr., 2002). No exterior também existem trabalhos com o uso de hipófises de aves, como os estudos de Yu et al. (1995), que utilizaram hipófises de frangos, avestruz, peru, ganso e pato para induzir à ovulação as carpas prateadas. Nwaduwe (1993) e Inyang e Hettiarachchi (1994), induziram "catfishs" africanos utilizando hipófises de anuros.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade do uso de extrato de hipófise de frango (EHF), de tilápia (EHT) e de rã (EHR) na indução do lambari (*Astyanax* sp.) à reprodução, comparando-se os resultados com aqueles normalmente obtidos com o extrato de hipófise de carpa (EHC).

## Metodologia

O presente trabalho foi realizado no laboratório de reprodução de peixes da Seção de Aquicultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (Ifes) – Campus de Alegre.

Os frangos e as tilápias foram abatidos, para extração cirúrgica das hipófises. Depois de extraídas, elas foram colocadas em acetona, para retirada da gordura. Após um período de 12 h, as glândulas foram retiradas da acetona e colocadas em um dessecador com sílica, para secar. Depois de secas, elas foram acondicionadas em um pote de cor âmbar com algodão hidrófilo e depositadas novamente no dessecador, para garantir a ausência de umidade. Depois de secas, as hipófises foram pesadas, calculando-se o peso médio das mesmas. As hipófises de rã touro foram obtidas em um ranário localizado no município de Anchieta, ES.

Os lambaris foram coletados em um viveiro do Campus, com rede de arrasto com abertura de malha de 8 mm. Selecionaram-se 120 machos e 40 fêmeas, que foram pesados um a um, em balança digital. Os espécimes coletados foram divididos em 6 lotes de 20 animais, cada lote contendo 15 machos e 5 fêmeas, sendo 3 tratamentos, com 2 repetições cada: T1: extrato

bruto de hipófise de frango (*Gallus gallus*) (EHF); T2: extrato bruto de hipófise de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (EHT); T3: extrato bruto de hipófise de rã touro (*Rana catesbeiana*) (EHR). Para o controle foi utilizada hipófise de carpa (*Cyprinus carpio*) (EHC).

Após um período de descanso de um dia, as matrizes de lambari foram pesadas e acondicionadas em hapas cilíndricas que estavam dentro de tanques de alvenaria do laboratório. Foram distribuídas as 40 fêmeas em 8 desses hapas, separadas dos machos, que ficaram em um tanque isolado. Foi então aplicada a primeira dose nas fêmeas e dez horas depois, foi aplicada a segunda dose. Os machos não receberam aplicação de hormônio.

Depois da aplicação, os animais foram dispostos em hapas, na proporção de 3 machos para 1 fêmea, adicionando-se kakabans para deposição dos ovos. Após o período de acasalamento, os animais foram retirados para avaliação da efetivação da reprodução, realizando-se a biopsia das fêmeas, para exame das gônadas.

## Resultados

Foi constatada a presença de ovos nos kakabans e ao redor dos hapas. Nos tratamentos T2 e T4, apenas 20% das fêmeas desovou, enquanto no tratamento T3, o sucesso foi de 60% e no controle (T1), de 70% (Tabela).

**Tabela:** Resposta das fêmeas à indução

tratamento	extrato	% desova
T1	carpa	70
T2	tilápia	20
T3	rã	60
T4	frango	20

## Discussão

O resultado ruim obtido nos tratamentos T2 e T4 pode ser devido às diferenças fisiológicas entre a espécie doadora e a espécie receptora ou devido ao fato de os doadores não estarem sexualmente maduros, na ocasião da retirada das hipófises. Martins (1936) afirma que resultados negativos podem não ter relação com especificidades zoológicas, mas com outros fatores, como menor concentração de hormônio nas hipófises ou variação na quantidade de diferentes componentes do complexo hormonal da hipófise anterior, que atua diretamente sobre as gônadas.

Souza et al (2003), utilizando EHF na reprodução induzida de carpas comuns (*Cyprinus carpio*), conseguiram a desova de 44% das fêmeas. Amaral Jr. (1995) na indução de fêmeas

de tenca (*Tinca tinca*) com EHF e HCG obteve 100% de resposta positiva. Yu et al. (1995) induziram fêmeas de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) com extrato de hipófise de frango, pato, ganso, avestruz e peru, e verificaram que o extrato de hipófise de frango foi o único que induziu a desova, nessa espécie de carpa. Provavelmente esse resultado se deve à semelhança entre os hormônios gonadotrópicos encontrados na hipófise do frango e dos peixes. Silva et al. (1997) induziram o curimatá (*Prochilodus lineatus*) com extrato de hipófise de frango e constataram que a maturação gonadal ocorreu em 100% das fêmeas induzidas. Barroso (1999) induziu o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com EHF e constatou a ação positiva desse hormônio na desova.

Navarro et al. (2007), realizando reprodução de curimatá (*Prochilodus affinis*) com EHR aplicados em duas doses nas concentrações de 0,5 e 0,7 mg/Kg, aplicados com intervalos de 12 horas, alcançou uma taxa de fêmeas desovadas de 75%. Na Índia, Mustafa et al. (1984) utilizaram EHR com sucesso na desova do “catfish” asiático (*Heteropneustes fossilis*). A utilização de anuros como doadores de hipófise também foi testada com sucesso por pesquisadores nigerianos, Nwaduwe (1993) promoveu a reprodução do “catfish” africano (*Heterobranchus longifilis*), obtendo 73% de fertilização e 63,5% de eclosão.

As hipófises de frango usadas no presente trabalho (T4) foram obtidas de animais com 40 dias de vida. Esse fato pode ter colaborado de forma negativa, pois os animais doadores, sendo muito jovens, talvez não a quantidade de hormônio necessária em suas hipófises. Souza et al. (2003) utilizaram animais com 45 dias, obtendo melhores resultados. Esse fato também pode justificar os resultados obtidos com o extrato de hipófise de tilápia (T2), pois não se sabe ao certo a idade das tilápias doadoras.

Bromage (1995) afirma que a qualidade da alimentação dos reprodutores, as condições ambientais, o estresse na captura, a manipulação no tanque de indução, a genética da espécie, as condições de incubação, o estágio de maturação, entre outros fatores, influenciam negativamente a reprodução, o que também pode ter ocorrido nesse trabalho.

Em um estudo realizado por Souza et al. (2003), não foi observada diferença significativa na unidade térmica acumulada (UTA) ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos com EHF e EHC. Entretanto, observou-se tendência a uma UTA maior nos animais tratados com EHF. Esse fato pode estar relacionado com a velocidade de assimilação dos hormônios existentes no EHF. A UTA pode variar de acordo com a espécie, com o método de

indução e o hormônio utilizado (CECCARELLI et al., 2000).

O comportamento biológico do organismo está na dependência das relações com o meio que o cerca e que os fatores físicos e químicos influenciam os processos vitais dos peixes, sendo difícil determinar qual a extensão dessa influência (BASILE-MARTINS et al. 1975).

Não se sabe ao certo qual a quantidade de hormônio presente na hipófise dos tratamentos no presente trabalho, podendo as mesmas conter doses menores ou maiores de gonadotropina. Doses muito elevadas de hormônio podem ter conseqüências negativas. Taranger et al., (1992) verificaram uma elevada taxa de mortalidade nos ovos de salmão do Atlântico, *Salmo salar* a uma dose de 100µg/kg de LHRHa. Crim et al., (1983) e Crim e Glebe (1984) observaram uma redução na viabilidade dos ovos do salmão do Atlântico quando utilizaram implante de *pellet* com 125µg/kg de LHRHa.

Cada espécie possui uma época de desova. A maioria dos peixes reofílicos se reproduz no verão, nos meses de outubro a março. Os animais no presente trabalho foram induzidos no final da estação reprodutiva, podendo por este motivo ter piorado o rendimento reprodutivo em alguns dos tratamentos.

## Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a melhor opção para a substituição ao uso de hipófise de carpa na indução de lambari à reprodução é a utilização do extrato de hipófise de rã touro, que proporcionou o melhor rendimento da taxa de desova. Ainda assim são necessários mais estudos na área.

## Referências

- AMARAL JÚNIOR, H. **Utilização de extrato hipofisário de galinha para a indução a desova de tenca.** Opção de banco de hipófise para o pequeno produtor rural. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 6, 1995, Ibirubá. *Anais...* Ibirubá: UFRGS, 1995. p.154-162.
- BARROSO, R. M. **Utilização do extrato bruto de hipófise de frango de corte (*Gallus domesticus*) na indução da maturação final oocitária e da desova em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (HOLMBERG, 1887).** 1999. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 1999.

- BASILE-MARTINS, M. A. et al. **Influência de fatores abióticos sobre a maturação dos ovários de *Pimelodus maculatus* Lac. 1803 (Pisces, Siluróidei)**. Boletim do Instituto de Pesca, Santos, p. 1-28, jan. 1975.
- BRAGA, F. M. S. **Aspectos da reprodução no gênero *Characidium* Reinhardt, 1867 (Crenuchidae, Characidiinae), na microbacia do Ribeirão Grande, serra da Mantiqueira, sudeste do Brasil**. Acta Sci. Biol. Sci., Maringá, v. 28, n. 4, p. 365-371, Oct./Dec., 2006.
- BROMAGE, N. **Broodstock management and seed quality-general considerations**. In: BROMAGE, N.; ROBERTS, R.J. (Ed.). *Broodstock management and egg larval quality*. Oxford: Blackwell Science, 1995. cap.1, p.1-24.
- CECCARELLI, P. S. et al. **Dicas em piscicultura: perguntas e respostas**. Botucatu: Santana Gráfica Editora, 2000.
- CRIM, L. W. et al. **Accelerated ovulation by pelleted LHRH analogue treatment of spring-spawning rainbow trout (*Salmo gairdneri*) held at low temperature**. *Aquaculture*, Amsterdam, v.35, p. 299-307, 1983.
- CRIM, L.W.; GLEBE, B. D. **Advancement and synchrony of ovulation in Atlantic salmon with pelleted LHRH analog**. *Aquaculture*, Amsterdam, v.43, p. 47-56, 1984.
- DONALDSON, E.M.; HUNTER, G.A. **Induced final maturation, ovulation, and spermiation**. In: HOAR, W.S. *Fish Physiology*. Orlando: Academic Press, 1983. cap. 7, p. 352-403.
- EMBRAPA MEIO AMBIENTE. **A aquicultura e atividade pesqueira**. Jaguariúna, 2006. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=aquic>. Acesso em: 21 de setembro de 2009.
- FAO. **Yearbook – fishery statistics**. Rome, 2006. Disponível em: <http://www.fao.org/fi/search/Yearbook.htm>. acesso em 21 de setembro de 2009.
- HARVEY, B; CAROLSFELD, J: **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa, IDRC. 1993 . P. 144.
- INYANG, N.M.; HETTIARACHCHI, M. **Efficacy of human chorionic gonadotropin (HCG) and crude pituitary extract of fish and frog in oocyte maturation and ovulation in African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 and *Clarias anguillaris* L. 1762**. *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v. 25, no. 2, p. 245-258, 1994.
- KUBTZA, F. **Reprodução, Larvicultura e Produção de Alevinos de Peixes Nativos**. Coleção Piscicultura Avançada. Jundiaí, Acqua Imagem, 2004.
- LOVELL, T. The concept of feeding fish. In: LOVELL, T. (Ed.). **Nutrition and feeding of fish**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. p.1-10.
- MARTINS, T. **Tratado de endocrinologia**. Companhia Editorial São Paulo: Nacional. 1986.
- MENIN, E. **Fisiologia animal comparada**. Manual de aula prática. Viçosa: UFV, 1992.
- MUSTAFA, S. et al. Induced spawning of catfish by frog pituitary gonadotropins. *Progressive Fish-Culturist*, Bethesda, v.46, n.1, p.43-44, jan. 1984.
- NAVARRO, R. D. et al. Reprodução induzida de curimatá (*Prochilodus affinis*) com uso de extrato bruto hipofisário de rã touro (*Rana catesbeiana*). **Zootecnia Trop**, Viçosa, v. 25, n. 2, p.143-147, mar. 2007.
- NWADUKWE, F. O. Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Heterobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Clariidae), using frog pituitary extract. **Aquaculture and Fisheries Management**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 625-630, set. 1993.
- RIBEIRO FILHO et al. Reprodução induzida de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802) com o uso de extrato bruto hipofisário. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 27, n. 2, p. 216-223. 1998.
- RIBEIRO FILHO, O. P. **Uso de extrato bruto de hipófise na indução da desova de rã touro, *Rana catesbeiana* Shaw, 1802**. 1994. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.
- ROSSI, F. **Produção de alevinos - manual**. Viçosa: CPT, 1996. 30 p.
- SALLUM, W. B. **Reprodução artificial das principais espécies de peixes em caráter reofílico**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 56p.
- SILVA, J. A. et al. Utilização de extrato cru de hipófise de frangos (*Gallus domesticus*) como indutor de desova em curimatá (*Prochilodus scrofa*). **Rev. Bras. Rep. Anim.**, Belo Horizonte, v.21, no.2, p.30–32, 1997.

- SOUZA, E.I D. *et al.* **Extratos de hipófise de frango e coelho na indução reprodutiva da carpa comum (*Cyprinus carpio*)**. Departamento de zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, v. 25, n. 1, p. 99-107. 2003.
- TARANGER, G. L. *et al.* Advancement and synchronization of ovulation in atlantic salmon (*Salmo solar* L.) following injections of LHRH-analogue. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 102, p. 169-175. 1992.
- VAN DER KRAAK, G. *et al.* Reproduction. In: EVANS, D. H. (Ed.). **The physiology of fishes**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1997.
- YU, J.Y.L. *et al.* Comparative effects of avian and piscine gonadotrophins on gonadal steroidogenesis, and of avian and piscine pituitaries on induction of spermiation and ovulation in the loach and white silver carp. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 135, n.1, p .59-72. 1995.