

Nota Técnica

Reprodução induzida de curimatá (*Prochilodus affinis*) com uso de extrato bruto hipofisário de rã touro (*Rana catesbeiana*)

Rodrigo Diana Navarro, Alessandro Arruda de Oliveira, Oswaldo Pinto Ribeiro Filho*, Flávio Portilho Carrara, Fernanda Keley Silva Pereira e Luiz Carlos Santos

* Universidade Federal de Viçosa, Ranário Experimental. Av. P.H. Rolfs, s/n CEP: 36571-000. Viçosa, Minas Gerais, Brasil. *Correio electrónico: oribeiro@ufv.br

RESUMO

La objetivou-se com este trabalho determinar o efeito do uso do extracto bruto de hipófise (EBH) na indução da desova em curimatá. Foi realizado uma seleção de fêmeas de rã touro (*Rana castesbeiana*) para extração da hipófise, onde as fêmeas doadoras foram aquelas que apresentavam aumento da cavidade visceral, provocado pelo ovários em estágio maduro ou de maturação avançada. Para desova foram utilizados 20 reprodutores de curimatá (*Prochilodus affinis*). Os machos com peso médio inicial de 170,0 g e comprimento médio de 21,72 cm e as fêmeas com peso médios iniciais de 181,0 g e comprimento médio de 6,28 cm. O experimento foi realizado com dois tratamentos: Tratamento 1: 0,5 mg/kg e Tratamento 2: 0,7 mg/kg. Os animais foram alojados em aquário com 1000 L de água, aeração constante. Vinte fêmeas receberam duas injeções intramusculares de extrato bruto de rã touro, sendo a primeira dose de 0,5 mg/kg e a segunda dose de 0,7 mg/kg, com intervalo de 12 horas. Os curimatás submetidos a dosagens de 0,5 mg/kg obtiveram números de larvas superior e estatisticamente significativas ($P>0,06$) ao tratamento 2 utilizando 0,7 mg /kg, provavelmente esse resultado pode ser em função de umas fêmeas estarem em diferentes estádios de maturação gonadal. Em curimatá duas de doses de extrato bruto de hipófise de rã touro nas concentrações de 5 e 7 mg/kg, permitiram a indução reprodutiva das fêmeas, mostrando uma alternativa no manejo reprodutivo.

Palavras chave: extrato bruto hipofisário, desova induzida, *Prochilodus affinis*.

Induced spawning of curimatá (*Prochilodus affinis*) with use of hypophyseal raw extract of bull frog (*Rana catesbeiana*)

ABSTRACT

The main objective of this work was to determine the effect of the use of hypophyseal raw extract to induce fish spawning in curimatá specie. An election of females of frog bull (*Rana castesbeiana*) was carried through for extraction of hypophysys, where the female donors had been those that presented an increment of their visceral socket, which was provoked by ovaries in mature phase or advanced maturation. Twenty curimatá breeders (*Prochilodus affinis*) had been used for spawning. The males had an initial average weight of 170.0 g and an average length of 21.72 cm and the females with an initial weight average of 181.0 g and an average length of 6.28 cm. The experiment was carried through with 2 treatments: Treatment 1: 0.5 mg/kg and Treatment 2: 0.7mg/kg. The animals were stocked in aquarium with 1000 L capacity with constant aeration. The females received two intramuscular injections of frog bull raw extract, being the first dose of 0.5 mg/kg and the second 0.7 dose of mg/kg, with interval of 12 hours. The females with dosages of 0.5 mg/kg had obtained a superior number of larvae than those with 0,7 mg/kg. The difference was statistical significant ($P>0,06$). This result was

probably due to different stadiums of gonadal maturation. Both dosages (0.5 and 0.7 mg/kg) of frog bull hypophyseal raw extract had allowed to induce reproduction of curimatá females, showing an alternative in the reproductive handling.

Keywords: raw hypophyseal extract, induced spawning, reproduction, *Prochilodus affinis*.

INTRODUÇÃO

No cultivo comercial de peixes, controlar o ciclo reprodutivo da espécie a ser cultivada é de extrema importância. O desenvolvimento de larvas e alevinos é um dos principais entraves para o desenvolvimento da piscicultura (Narahara *et al.*, 2002).

O emprego de técnicas de controle de parâmetros abióticos como fotoperíodo e temperatura, juntamente com a utilização do processo de reprodução induzida por meio de uso de hormônios hipofisários de rã, é um recurso que pode estimular a reprodução tanto de peixes e rã (Ribeiro Filho, 1994).

A indução de desovas pelo uso de hipófises de outras espécies tem sido empregada por alguns pesquisadores como Ribeiro Filho (1998), umas das vantagens da utilização de hipófise de rã-touro é que as fêmeas adultas de rã-touro permanecem maduras durante o ano todo (Ribeiro Filho, 1994), portanto como no abate de rã não se utiliza cabeça; possibilitando assim a extração de hipófise.

À semelhança de grande número de espécies reofílicas, que não se reproduzem naturalmente em condições de cativeiro, como por exemplo, *Curimatá* que necessitam ser induzidos à reprodução através de aplicação de hormônios (Castagnolli e Cyrino, 1980; Sato *et al.*, 1996a).

Vários pesquisadores brasileiros têm-se interessado pela reprodução induzida de espécies reofílicas. Assim, foram desenvolvidos trabalhos com mandi, *Pimelodus maculatus* (Fenerich *et al.*, 1974), dourado, *Salminus maxillosus* (Dumont-Neto *et al.*, 1997), curimatá, *Prochilodus scrofa* (Castagnolli e Cyrino, 1980; Godinho *et al.*, 1984), curimatã-pacu, *Prochilodus margravii* (Sato *et al.*, 1996b), curimatã-pioa, *Prochilodus affinis*, pacu, *Piaractus mesopotamicus* (*Colossoma mitrei*) (Godinho *et al.*, 1977; Castagnolli e Donaldson, 1981, Romagosa *et al.*, 1985), Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus*,

(Narahara *et al.*, 2002) que são espécies de alto valor comercial e indicadas para piscicultura.

Portanto, conhecer o uso de técnicas alternativas para reprodução induzida dessas espécies, em condições de cativeiro, é de fundamental importância (Menin, 1992). A utilização de hipófise de diferentes espécies é uma das alternativas para minimizar custos da técnica de indução de reprodução. No abate de rã, a cabeça é um material descartável, no entanto podendo ser utilizada na técnica de extração e aplicação do extrato bruto de hipófise em outras espécies.

Além disso, nenhuma informação tem sido encontrada em relação ao uso de extrato de hipófise de rã touro na reprodução de curimatá (*Prochilodus affinis*). Objetivou-se com este trabalho determinar o efeito do uso do extrato bruto de hipófise rã touro (*Rana castesbeiana* Shaw 1802) na indução da desova em curimatá.

MATERIALES E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de reprodução da Estação de Piscicultura e Hidrobiologia do Departamento de Biologia Animal da UFV. Foi realizada uma seleção de fêmeas de rã touro para extração da hipófise, onde as fêmeas doadoras foram aquelas que apresentavam aumento da cavidade visceral, provocado pelos ovários em estágio maduro ou de maturação avançada (Costa, 1992). O tamanho das hipófises dos exemplares utilizados foi de 0,3 cm e o peso variou de 0,6 a 1,0 mg. A extração das hipófises foi feita com uma incisão na mucosa bucal, na linha mediana entre o orifício das trompas auditivas, visando atingir o osso esfenetimóide, localizado sob o encéfalo (Menin, 1992).

Após a extração das hipófises, as mesmas foram colocadas em frasco contendo acetona, usada com meio desidratante. No término da coleta, efetuou-se a lavagem das hipófises para retiradas de tecido estranho. Em seguida, a acetona foi repostada de 20

vezes o volume das hipófises. Ao final da desidratação, as hipófises foram colocadas em papel filtro e deixadas ao ar secar à temperatura ambiente e em local seco, por um período de uma hora. A seguir, cada hipófise foi pesada individualmente em balança analítica com sensibilidade de 0,0001 g.

Para obter a dosagem pré-determinada, tornou-se como base o peso total dos animais de cada tratamento. As fêmeas selecionadas receberam injeções intramusculares extrato bruto hipofisário de rã touro na primeira dose foi de 0,5 mg/kg e na segunda dose foi de 5 mg/kg num intervalo de 12 horas num total de 177 horas graus. Os machos receberam aplicação também de extrato bruto hipofisário de rã touro de 5 mg/kg, por ocasião da aplicação da segunda dose nas fêmeas.

Foram utilizados 20 reprodutores de curimbatá (*Prochilodus affinis*) sendo 10 do tratamento 1 e 10 do tratamento 2. Os machos com peso médio inicial $170,0 \pm 69,92$ g e comprimento médio de $21,72 \pm 2,32$ cm e comprimento padrão de $16,54 \pm 2,5$ cm e as fêmeas com peso médios inicial $181,0 \pm 69,92$ g e comprimento médio de $23,75 \pm 1,28$ cm e comprimento padrão $16,25 \pm 2,19$ cm. O experimento foi realizado com 2 tratamentos: Tratamento 1: 0,5 mg/kg e Tratamento 2: 0,7 mg/kg. Os animais foram alojados em aquário com 1000 litros de água, aeração constante.

A desova ocorreu naturalmente nos aquários, logo após os ovos produzidos, pôr fêmea, foram colocados em incubadoras cilíndricas individuais contendo 20 L de água, corrente e à temperatura de $29,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Foram calculadas a porcentagem de larvas e a porcentagem de fêmeas que desovaram. As análises estatísticas foram feitas pelo programa SAS.

RESULTADOS

Os parâmetros de qualidade da água avaliados permaneceram normais e dentro das condições ótimas para o crescimento da espécie em todos os tratamentos de acordo Castagnolli (2002). Os valores médios observados para os parâmetros monitorados foram: a temperatura ficou de $27,9 \pm 0,14^\circ\text{C}$, $7,25 \pm 0,58$ para pH.

Os curimbatás submetidos a dosagens de 0,5 mg/kg obtiveram números de larvas superior e estatisticamente significativo ($P > 0,05$) ao tratamento 2 utilizando 0,7 mg/kg, Fêmeas que receberam hormônio hipofisário com dosagem de 0,5 mg/kg obtiveram uma maior porcentagem de desova em relação a fêmeas que receberam hormônio hipofisário com dosagem de 0,7 mg/kg (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Provavelmente esse resultado pode ser em função de umas fêmeas estarem em diferentes estádios de maturação gonadal. (Narahara *et al.*, 2002) Trabalhando com extrato de pituitária de salmão em pirapitinga do sul (*Brycon opalinus*) observou que nas duas concentrações 5 e 10 mg/kg permitiram a indução reprodutiva. (Streit *et al.*, 2002), utilizaram hipófise de frango e coelho como indutores gonadais e observaram a indução reprodutiva de machos de *Leporinus macrocephalus*. (Reidel *et al.*, 2002), trabalhando com *Leporinus macrocephalus* utilizando hipófise de carpa observaram que o animal após 170 horas graus realizou-se extrusão dos óvulos das fêmeas, no presente experimento a desova ocorreu em 177 horas graus. (Godinho *et al.*, 1984), utilizaram HCG (gonadotropina coriônica humana) e EPS (extrato bruto de pituitária de salmão) para induzir a desova em *Prochilodus scrofa* e concluíram que podem ser usados como agentes indutores à reprodução

Tabela 1. Valores médios em percentual de resposta de curimbatá (*Prochilodus affinis*) ao estímulo hormonal de diferentes dosagens de extrato bruto de rã touro.

Dosagem	Intervalos entre doses	Fêmeas que desovaram	Larvas
mg/kg	H	%	N
0,5	12	75	25.373
0,7	12	25	19.066

As diferenças das repostas obtidas com os animais do tratamento 1 e 2 podem ter acontecido em virtude das variações dos graus de maturação gonadal, temperatura e alimentação. (Frenkel e Goren, 1997) observaram que alguns fatores como salinidade, taxa de alimentação, temperatura e fotoperíodo afetam diretamente a reprodução em *Aphanius dispar*.

O sucesso da indução de desova também foi discutido por Martins (1936) que afirmou serem os resultados negativos, obtidos em muitas tentativas de indução da reprodução, não relacionados com especificidades zoológicas, mas sim outros fatores, como menor concentração de hormônios gonadotróficos presentes nas hipófises; variação quantitativa dos diferentes componentes do complexo hormonal da hipófise anterior, cuja influência é exercida reciprocamente sobre as gônadas e em outros locais de atuação. Em curimatá *Prochilodus affinis* duas doses de extrato bruto de hipófise de rã touro nas concentrações de 0,5 e 0,7 mg/kg aplicadas com intervalos de 12 horas, permitiram a indução reprodutiva das fêmeas, mostrando uma alternativa no manejo reprodutivo.

LITERATURA CITADA

- Castagnolli N. 1992. Piscicultura de Água Doce. Funep, Jaboticabal. Brasil.
- Castagnolli N. e J.E.P. Cyrino. 1980. Desova induzida do curimatá *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). Ciência e Cultura, 32(9): 1245- 1253.
- Castagnolli N. e E.M. Donaldson. 1981. Induced ovulation and rearing of the pacu, *Colossoma mitrei*. Aquaculture, 25: 275-279.
- Costa C.L.S. 1992. Desenvolvimento do aparelho reprodutor e fatores associados ao ciclo reprodutivo da rã-touro no sistema anfigranja. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. Brasil. 90p.
- Dumont-Neto R., A. Pelli e R.O. Freitas. 1997. Reprodução induzida do dourado (*Salminus maxillosus*, Valenciennes, 1849) na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta-Grande. Revista Unimar, 19(2): 439-445.
- Fenerich N.A., H.M. Godinho e J.M.B. Barker. 1974. Sobre a ocorrência de ovulação de *Rhamdia hilarii*, *Pimelodus maculatus* e *Salminus maxillosus* em laboratório. Ciência e Cultura, 26(7): 344- 352.
- Frenkel V. e M. Goren. 1997. Some environmental factors affecting the reproduction of *Aphanius dispar* (Ruppell 1828). Hidrobiologia, 7: 197-207.
- Godinho H.P. e A.L. Godinho. 1986. Induced spawning of pacu, *Colossoma mitrei* (Berg., 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. Aquaculture, 55: 69-73.
- Godinho H.M., N.A. Fenerich e M.Y. Narahara. 1977. Sobre reprodução induzida do pacu *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). Ciência e Cultura, 29: 796- 797.
- Godinho H.M., E. Romagosa e M.A. Cestarolli. 1984. Reprodução induzida de curimatá, *Prochilodus scrofa* Steind., 1881, sob condições de cultivo experimental. Rev. Bras. Reprodução Animal, 8(2): 113-119.
- Godinho H.P. e D.M. Ribeiro. 1985. Maturidade sexual de curimatás, *Prochilodus scrofa* (Pisces, Teleostei) em viveiros. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot, 34(7): 349-357,.
- Menin E. 1992. Fisiologia Animal Comparada. Manual de Aula Prática. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária. Viçosa. Brasil.
- Narahara M.Y., E.F. Andrade-Talmelli, E.T. Kavamoto e H.N. Godinho. 2002. Reprodução induzida da Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), mantida em condições de confinamento. Revista Bras. Zootecnia, 31(3): 1070-1075.
- Martins T. 1936. Tratado de Endocrinologia. Companhia Editorial Nacional, São Paulo. Brasil.
- Reidel A., A. Feiden, A. Klahold e W.R. Boscolo. 2002. Reprodução de piauçu (*Leprorinus macrocephalus*) Aspecto da desova e fecundação. Anais XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, Goiânia. p. 359.

- Ribeiro Filho O.P. 1994. Uso de extrato bruto de hipófise na indução da desova de rã touro, *Rana catesbiana* Shaw, 1802, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. Brasil.
- Ribeiro Filho O.P., S.L. Lima, D.R. Andrade e J.T. Seixas Filho. 1998. Reprodução induzida de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802) com o uso de extrato bruto hipofisário. Rev. Bras. Zootec., 27(2): 216-223.
- Romagosa E., P. Paiva e M.A.Cestarolli. 1985. Reprodução induzida de pacu *Colossoma mitrei*, Berg., 1895, mantido em condições de cultivo intensivo. Ciência e Cultura, 37(7): 849-875.
- Sakaguti E.S., W.C. Caçador, E.L. Márquez e E. Lupchinssk Jr. 2002. Extrato de hipófise de frango e coelho como indutores gonadais de amchos de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). Anais XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, Goiânia. Brasil. p. 344
- Sato Y., E.L. Cardoso e A.L. Godinho. 1996a. Hypophysation parameter of the neotropical fish *Prochilodus margravii* obtained in hatchery conditions. Rev. Brás. Biologia, 56(1): 59-64.
- Sato Y., E.L. Cardoso e A.L. Godinho. 1996b. Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the rio São Francisco basin, Brazil. Arq. Brás. Méd. Vet. Zoot., 48(1): 55-62.
- Streit Jr. D.P., G.V. Moraes, J.A. Povh, E.D. Souza, R.F. Ribeiro e A.D. Woodhead. 2002. Nutrition and reproductive capacity in fish. Proc. Nutrition Soc., 19: 23-27.