



Simpósio Brasileiro De Biologia Marinha

O USO DE TERAPIAS CRÔNICAS DE INDUÇÃO HORMONAL COM HCG E FSH, NA MATURAÇÃO GONADAL DO ROBALO-FLECHA, *Centropomus undecimalis*, EM CATIVEIRO.

Ferraz, E. M. ¹; Cerqueira, V. R. ²

¹Instituto de Pesca-SP, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA)
E-mail: emferraz@pesca.sp.gov.br

²Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. E-mail: vrcerqueira@cca.ufsc.br

RESUMO

No período reprodutivo 2008/2009, 36 machos e duas fêmeas foram induzidas à maturação através de tratamento crônico com hCG e FSH. Verificou-se a presença de ovócitos vitelogênicos (150 µm), após a terceira aplicação de hCG em uma das fêmeas, mas o pequeno número de animais espermiando e o reduzido volume de sêmen indicam pequena eficiência dos tratamentos crônicos no caso dos machos do robalo-flecha.

Palavras-chave: robalo-flecha, dose crônica, FSH, hCG

INTRODUÇÃO

Zohar & Mylonas (2001) consideram que nos casos em que vitelogênese e espermatogênese não são obtidas em peixes em cativeiro, e os hormônios como o GnRH e seus análogos não são totalmente eficazes, alternativa pode ser baseada na aplicação de gonadotrofinas exógenas, como o hormônio gonadotrófico coriônico humano (hCG). Exemplo disto foi visto para enguia japonesa, *Anguilla japonica*, por Ohta *et al.* (1997) que obtiveram sucesso na maturação em cativeiro da espécie, após a aplicação de terapias crônicas com hormônio gonadotrófico purificado de salmão em fêmeas e do hormônio gonadotrófico coriônico humano (hCG) em machos. Este tipo de terapia crônica também foi efetiva na obtenção de vitelogênese e espermatogênese em enguia européia, *Anguilla anguilla* (Pedersen, 2003). No Brasil, problemas relacionados à maturação do robalo-flecha em cativeiro são relatados por Soligo *et al.* (2008), que verificaram reduzida produção de sêmen nos reprodutores submetidos à injeção de LHRHa. Pequeno volume de sêmen e ausência de vitelogênese também foi verificado por Ferraz & Cerqueira (2010), para reprodutores do robalo-flecha, submetidos a confinamento em diferentes regimes de temperatura. Cerqueira (2009) considera esta dificuldade na maturação em cativeiro como o principal entrave para a produção comercial da espécie. Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do tratamento crônico com o hormônio gonadotrófico coriônico humano (hCG) e também da aplicação do hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a maturação gonadal do robalo-flecha em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

No período reprodutivo de 2008/2009, 36 machos e duas fêmeas com peso médio = 2.975 ± 408 g e comprimento médio = 685 ± 31 mm estavam identificados através de microchip eletrônico (AVID) e foram distribuídos em seis tanques de 8.000 L de capacidade (2.231 g/m^3). Os tanques foram adaptados para operar com sistema de fotoperíodo natural simulado (FNS), de acordo com dados obtidos para a região (Latitude: 27° 36' S, Longitude: 48° 37' W, fonte EPAGRI). A intensidade luminosa medida na superfície da água foi de 1000 Lux utilizando 4 lâmpadas fluorescentes de 32 W. O alimento consistiu de 50% de um produto comercial seco (fish breed-M INVE[®] Alimentos) e 50% de parte úmida (30% sardinha moída e 20% de lula moída) com valor de proteína bruta ao redor de 60%. A taxa de alimentação foi de 1% do peso vivo por dia, sendo fornecido de três a cinco vezes por semana, em acordo com o aumento

da temperatura no período. Os parâmetros de qualidade da água dos tanques de reprodutores foram aferidos da seguinte maneira: diariamente, temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (termômetro digital full gauge) e salinidade (‰) (refratômetro portátil); duas vezes por semana, amônia total (mg/L) (fotocolorímetro digital Alfakit) e pH (fita indicadora universal de pH, Merck).

Os machos foram submetidos a três tratamentos hormonais, 1) doses semanais de hCG (250 UI.kg^{-1}) por quatro semanas e uma dose definitiva de hCG (500 UI.kg^{-1}) na quinta semana, denominado tratamento (hCG), 2) na primeira semana dose de $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ e na segunda semana de $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ de FSH (Folltropin-V Bioniche – Canadá) e, nas três semanas seguintes, doses de HCG (250 ; 250 e 500 UI.kg^{-1}), denominado tratamento (FSH + HCG), 3) tratamento (controle), os animais receberam apenas solução salina em todas as semanas, conforme os tratamentos anteriores. Duas fêmeas pertencentes ao plantel de reprodutores também foram submetidas a doses semanais de HCG (250 UI.kg^{-1}) por cinco semanas consecutivas e uma dose definitiva de 500 UI.kg^{-1} na sexta semana. Para administração do hormônio, os animais foram anestesiados com benzocaína (60 mg.L^{-1}), sendo o hormônio injetado na musculatura da região dorsal, acima da linha lateral.

Os machos após tratamento, foram anestesiados e massageados na região ventral, no sentido crânio-caudal, para verificar a liberação de sêmen através da papila genital. Seringa hipodérmica de 1 mL foi utilizada para coleta e medição do volume espermático. Volumes menores de sêmen foram aferidos com seringa com precisão de μL (Hamilton $10 \mu\text{L}$). As fêmeas foram anestesiadas e amostradas através de biópsia ovariana (Ferraz *et al.*, 2004), a cada nova indução hormonal. O material coletado foi examinado em estereomicroscópio, sendo medidos aproximadamente 50 ovócitos para definição do diâmetro médio.

RESULTADOS

Os valores dos parâmetros de qualidade da água registrados em fevereiro a março de 2009 foram: temperatura, $25,0 - 25,9 \text{ }^{\circ}\text{C}$; salinidade, $35 - 36\text{‰}$; oxigênio dissolvido, $5,2 - 6,7 \text{ mg L}^{-1}$; amônia total, $0 - 0,25 \text{ mg L}^{-1}$; pH, $8,0$.

No caso dos machos do robalo-flecha, após o exaustivo protocolo de indução hormonal, apenas 5 animais dos 36 reprodutores utilizados apresentaram volumes de sêmen de aproximadamente $10 \mu\text{L}$. Na tabela 1, são apresentadas as variações de peso e comprimento verificados para estes animais no período de fevereiro e março de 2009, nos diferentes tratamentos hormonais. Apesar do grande manejo a que os animais foram submetidos, ocorreu incremento de comprimento e peso, mas o fator de condição indica redução da condição dos animais nos três tratamentos.

Tabela 1. Dados de crescimento dos reprodutores masculinos (fevereiro a março de 2009)

Parâmetro	HCG	FSH+ HCG	Controle
Peso inicial (g)	2934 ± 156	3104 ± 133	2902 ± 277
Peso final (g)	2949 ± 163	3132 ± 108	2932 ± 275
Comprimento inicial (mm)	680 ± 17	698 ± 20	678 ± 25
Comprimento final (mm)	689 ± 17	701 ± 14	686 ± 27
Fator de condição inicial	$0,93 \pm 0,05$	$0,90 \pm 0,05$	$0,93 \pm 0,05$
Fator de condição final	$0,90 \pm 0,04$	$0,90 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,03$

As duas fêmeas induzidas à reprodução por seis semanas consecutivas com hCG tiveram amostras de ovócitos coletadas após cada indução. Na amostra coletada antes da quarta indução em uma das fêmeas foi observado ovócitos com diâmetro aproximado de $150 \mu\text{m}$ (Figura 1).

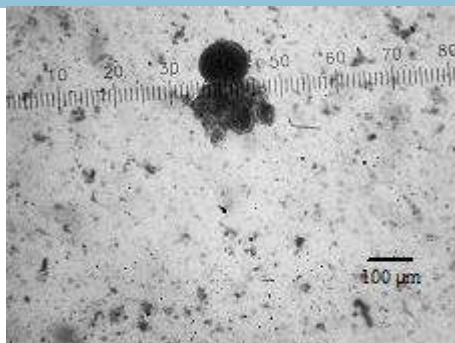


Figura 1. Diâmetro de ovócitos de uma amostra coletada em uma fêmea de robalo-flecha, *C. undecimalis*, em março de 2009, submetida a tratamento com hCG. Barra = 100 micrômetros

DISCUSSÃO

Os resultados verificados para os machos do robalo-flecha no período reprodutivo de 2008/2009 não permitiram identificar nenhuma melhoria na maturação dos animais para as condições examinadas. A utilização de múltiplas doses de FSH + hCG ou apenas hCG não foram efetivas para melhoria da produção de sêmen no período. Bobe & Labbé (2010) e Mylonas *et al.* (2010) relatam que no geral o manejo para animais em cativeiro pode ter efeito direto sobre a qualidade dos gametas. No presente trabalho, o fato de os machos não terem respondido positivamente a este protocolo pode ser decorrente, pelo menos em parte, de todo o manejo realizado. Mesmo assim, a tabela 1 mostra que o crescimento dos animais em peso e comprimento teve continuidade. O fator de condição bastante baixo pode indicar queda da condição nutricional destes animais e também um limitado desenvolvimento gonadal.

Já o resultado observado nas fêmeas, após três aplicações de hCG foi bastante promissor, visto que pela primeira vez foram encontrados ovócitos vitelogênicos (Figura 1). Zohar & Mylonas (2001) comentam que as fases iniciais da gonadogênese são melhor estimuladas por preparações de gonadotrofina (GtH) que pelo uso do hormônio liberador de gonadotrofina GnRH. Ohta *et al.* (1997) obtiveram maturação da enguia japonesa, *Anguilla japonica*, em cativeiro, através de protocolo de múltiplas doses de hormônio gonadotrófico, após aplicações semanais (9–12 semanas) de extrato de hipófise de salmão em fêmeas e hCG em machos. A importância deste resultado relaciona-se ao fato da espécie não apresentar nenhum sinal de desenvolvimento gonadal em condições de cativeiro. Pedersen (2003) descreve protocolo de até 24 semanas de injeções de extrato de hipófise de salmão para obtenção da maturação enguia européia, *Anguilla anguilla*.

As informações obtidas no presente trabalho são importantes no estabelecimento de protocolos para o avanço da maturação de robalo-flecha em condições de laboratório. Entretanto, também indicam que novos protocolos para estimular a maturação, deverão ainda ser desenvolvidos utilizando tanto fatores ambientais, quanto hormonais.

REFERÊNCIAS

- Bobe, J. & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 535-48.
- Cerqueira, V.R. (2009). Spawning and larviculture of the fat snook (*Centropomus parallelus*) and the common snook (*Centropomus undecimalis*) in Brazil. *Abstracts do II International Symposium on the Biology and Culture of Snooks*, Villahermosa, México, 2009, v.1.
- Ferraz, E.M.; Alvarez-Lajonchère, L.; Cerqueira, V.R. & Candido, S. (2004). Validation of an ovarian biopsy method for monitoring oocyte development in the fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, 1860 in captivity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(4): 643-8.



Simpósio Brasileiro De Biologia Marinha

- Ferraz, E. M. & Cerqueira, V.R. (2010). Influência da temperatura na maturação gonadal de machos do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*. *Boletim do Instituto de Pesca*, 36(2): 73-83.
- Mylonas, C.C.; Fostier, A & Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 516-34.
- Ohta, H.; Kagawa, H.; Tanaka, H.; Okuzawa, K.; Inuma, N. & Hirose, K. (1997). Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 17: 163-9.
- Pedersen, B. H. (2003). Induced sexual maturation of the European eel, *Anguilla anguilla*, and fertilization of the eggs. *Aquaculture*, 224: 323-38.
- Soligo, T.A.; Ferraz, E.M.; Cerqueira, V.R. & Tsuzuki, M.Y. (2008). Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, no Brasil. In: Cyrino, J.E.P., Scorvo Filho, J. D., Sampaio, L.A.; Cavalli, R.O. (Eds) Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura II. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, p. 143-52.
- Zohar, Y. & Mylonas, C.C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99-136.