

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PEIXES CONTINENTAIS
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-PIBIC/ICMBio**

Reprodução em cativeiro de Piracanjuba *Brycon orbignyanus* submetidos a diferentes dosagens hormonais de Ovopel®

**Bolsista: Públio Santos Domingues
Orientador: Dr. José Augusto Senhorini**

**PIRASSUNUNGA-SP
JULHO/2013**

RESUMO

A piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é um peixe ameaçado de extinção (IN/ 5/2004) que tem enfrentado sérios riscos de desaparecimento, pois sofreu impacto humano nas últimas décadas e experimentou mudanças profundas nas populações naturais. Deste modo, esforços para substituir os indivíduos na população selvagem com indivíduos produzidos em cativeiro estão sendo realizados. Este estudo buscou melhores resultados na produção de ovos viáveis através da indução hormonal de fêmeas de piracanjuba com o uso do hormônio sintético Ovopel® (OVP: mGnRHa [des-Gly10-(D-Ala6) LH-RH ethylamide] + metoclopramide). No experimento, foram utilizados dois tratamentos (T1 e T2), e estes foram estabelecidos pelo uso de diferentes dosagens de Ovopel®. No T1, as fêmeas receberam dose única de 5mg/kg e no T2, as fêmeas receberam uma dose preparatória de 0,5mg/kg e outra definitiva de 5,0mg/kg doze horas após a primeira aplicação. Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferença na resposta a desova, na liberação e quantidade de ovócitos produzidos. Quatro fêmeas de cada tratamento responderam a indução, enquanto que apenas uma do T1 produziu ovos viáveis com eclosão de 20% de larvas e no T2, 4 fêmeas liberaram ovócitos, com eclosão das larvas em 34% (fêmea 1), 22,84% (fêmea 2), 87,32% (fêmea 3), 81,32% (fêmea 4). O uso de duas dosagens de Ovopel® em piracanjuba estimula a liberação de ovócitos e produz larvas viáveis. As informações obtidas são fundamentais para o desenvolvimento de projetos de manejo e de conservação das populações mantidas em bancos genéticos “ex situ” cultivadas desta espécie.

Palavras-chave: piracanjuba, conservação, reprodução artificial, *Brycon orbignyanus*.

Abstract

The piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) is a fish endangered of extinction (IN / 5/2004), which faces serious risk of disappearing because has suffered human impact in the recent decades and has experienced profound changes in natural populations. Thus, efforts to replace the individuals of the wild population with captive individuals produced are being conducted. This study sought to better results in the production of viable eggs through hormonal induction of females of piracanjuba using the synthetic hormone Ovopel ® (OVP: mGnRH α [des-Gly¹⁰-(D-Ala⁶) LH-RH ethylamide] + metoclopramide). It was used two treatments (T1 and T2), established by the use of different dosages of Ovopel ®. At T1, the females received a single dose of 5mg/kg and T2, the females received a priming dose of 0.5 mg / kg and a definitive dose of 5.0 mg / kg twelve hours after the first application. The results showed that there wasn't difference in response to spawning, release and numbers of oocytes produced. Four females from each treatment responded to induction, while only a female from T1 produced viable eggs with 20% hatching of larvae and T2, 4 females released oocytes and the hatching of larvae with 34% (1 female), 22, 84% (2 female), 87.32% (3 female), 81.32% (4 female). The use of two doses of Ovopel in piracanjuba stimulates the release of oocytes and produces viable larvae. The informations obtained are essential to development management and conservation projects of the maintained populations in gene banks "ex situ" cultivated of this species.

Key-words: piracanjuba, conservation, artificial reproduction, *Brycon orbignyanus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Exemplar de <i>Brycon orbignyanus</i> (Valenciennes, 1849)_____	12
Figura 2.	Seleção dos Reprodutores _____	12
Figura 3.	Extrusão de Ovócitos _____	14
Figura 4.	Extrusão de Sêmen _____	15
Figura 5.	Separação e contagem das alíquotas em placas de Petri _____	15
Figura 6.	Embriões de piracanjuba para estimativa da taxa de eclosão _____	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Representatividade do cálculo de hora-grau para a piracanjuba	14
Tabela 2.	Resultados obtidos no tratamento com apenas uma dose hormonal	17
Tabela 3.	Resultados obtidos no tratamento com duas doses hormonais.....	17

SIGLAS

CEPTA	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
PIBIC	Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
UICN	União Internacional para Conservação da Natureza

SUMÁRIO

RESUMO	01
ABSTRACT	02
LISTA DE FIGURAS	03
LISTA DE TABELAS	04
SIGLAS	05
SUMÁRIO	06
1. INTRODUÇÃO	07
1.1 Considerações sobre a espécie <i>Brycon orbignyanus</i>	08
1.2 Reprodução Induzida	09
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
3. RESULTADOS	16
3.1 Análise Estatística	17
4. DISCUSSÃO	19
5. AGRADECIMENTOS	22
6. ETAPAS E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PLANO DE TRABALHO	22

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INTRODUÇÃO

Segundo Lewinsohn & Prado (2002), aproximadamente 14% das espécies do planeta podem ser encontradas no Brasil e segundo Buckup & Menezes (2003), o Brasil também comanda a lista de maior número de peixes de água doce catalogadas com duas mil cento e vinte e duas espécies, além de representar 21% do total de peixes de água doce do mundo.

Os ecossistemas aquáticos estão em frequente exposição a problemas ambientais e por esta razão, os peixes vêm sendo submetidos a fortes ações antrópicas; em nosso país, essas ameaças consistem em sobrepesca, desmatamento ciliar, destruição de alagadiços e poluição, que geralmente estão relacionadas ao desenvolvimento da agropecuária ou ao desenvolvimento e urbanização das cidades, além de ameaças como a introdução de espécies exóticas e construção de reservatórios para o funcionamento de usinas hidrelétricas (ROSA & MENEZES, 1996).

Para as espécies de peixes reofílicas a maior barreira para sua perpetuação e seu ciclo de vida tem sido a construção de barragens (ROSA & LIMA, 2008), pois a migração de peixes tanto para se alimentar ou reproduzir, está diretamente relacionada às mudanças de estação, variação da quantidade de água e seus componentes (SILVA & SOLIS-MURGAS, 2007).

As usinas hidrelétricas têm causado grande impacto na pesca em diversos países, além de levar a regularização do regime hidrológico, alterando os habitats de desova, áreas de abrigo e também o gatilho do ciclo de vida como o que desencadeia a desova, desta forma atuando como uma barreira intransponível na rota dos peixes de piracema (GODINHO & GODINHO, 2003). A construção de hidrelétricas causa modificações nos rios formando uma série sequencial de lagos, potencialmente grandes e com poucos trechos preservados desligados um do outro (BRESSAN et al. 2009), conseqüentemente influenciando na

regulação do fluxo de água dos reservatórios que flui em um ritmo irregular, dificultando assim a reprodução pela modificação do ambiente (ROSA & LIMA, 2008).

1.1 Considerações sobre a espécie *Brycon orbignyana*.

Dentre os peixes migradores ou reofílicos, o gênero *Brycon* é o mais representado no Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção, com seis espécies, incluindo a piracanjuba *Brycon orbignyana*. A espécie foi avaliada segundo a UICN (União Mundial para a Conservação da Natureza) e considerada ameaçada e categorizada em perigo de extinção (EN) (AGOSTINHO et al. 2008) através dos critérios: A2ace; B2ab(iii).

A piracanjuba, *B. orbignyana* (Valenciennes, 1849), segundo Britski et al. (1988), tem sua taxonomia classificada na subfamília Bryconinae, família Characidae da ordem Characiformes e era representada em um gênero constante, *Brycon*. Recentemente Oliveira et al. (2011) descreveu a subfamília Bryconidae como uma família com duas subfamílias, a Salmininae e Bryconinae.

Esta espécie apresenta indivíduos de corpo longo, com duas fontanelas na cabeça, escamas parecidas tanto embaixo quanto em cima da linha lateral. Seu ventre arredondado o deixa fusiforme. Sua mandíbula e maxilar podem apresentar mesmo tamanho com dentes tricúspides externos e internos além de quantitativos branquiespinhos de raios médios na cauda que formam uma ponta marginal (GODOY, 1975).

Godoy (1975) descreve a maturação gonadal da *B. orbignyana* em ambiente natural em machos aos 20,0 cm de comprimento e fêmeas próximas de 25,0 cm. Os machos quando atingem a maturidade sexual, normalmente são identificados pela aspereza da nadadeira anal (MURGAS et al. 2009).

O dimorfismo nos machos se apresenta por volta dos dois anos de idade e as fêmeas não apresentam modificações, estabelecem-se maduras sexualmente perto dos três anos de idade (ZANIBONI-FILHO e SCHULZ, 2003).

A espécie esteve vastamente distribuída pelas bacias dos rios Paraná e Uruguai, em São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, tendo relatos de sua ocorrência no Paraguai, Uruguai e Argentina (BRESSAN et al. 2009).

Vem sendo ameaçada pela forte relação entre quatro fatores, destruição de florestas ciliares, introdução de espécies, poluição e represamentos (AGOSTINHO et al. 2008).

Há ainda fatores que influenciam a recuperação desta espécie, como pesca exacerbada (GODOY, 1975), sensibilidade a mudanças dinâmicas da água (CONTE et al. 1995; CECÍLIO et al. 1997), hibridação (PONZETTO et al. 2009) e repovoamento realizado inadequadamente (LOPERA-BARRERO 2005; SONSTEBO et al. 2007; POVH, 2007).

A *B. orbignyanus* é denominada grande migradora por percorrer grandes distâncias para se reproduzir. Inicia sua jornada migratória reprodutiva no mês de setembro estendendo até início de outubro, reproduzindo-se de dezembro a janeiro (GODOY, 1975). Possui hábito omnívoro e procura principalmente por frutas e sementes, podendo realizar migração para se alimentar, ou seja, migração trófica (CECARELLI et. al. 2005).

1.2 Reprodução Induzida.

Para a conservação de uma espécie, os conhecimentos de todas as etapas de seu ciclo vida são extremamente necessários. Quando se trata do conhecimento de técnicas reprodutivas, entretanto, o alto número de espécies traz consigo várias implicações por suas respectivas técnicas, sendo observado que a técnica propagativa de sucesso em uma espécie

pode diferir do rendimento de outra, mostrando então a necessidade do estudo das características de cada tipo de peixe (ANDRADE & YASUI, 2003).

Hoje por todo o planeta, várias espécies de água doce e salgada são preservadas e reproduzidas em diferentes sistemas produtivos (ANDRADE & YASUI, 2003). Fora do ambiente natural as espécies lênticas que habitam lagos e represas, reproduzem-se naturalmente e espécies de ambiente lótico que habitam os rios reproduzem-se a partir da estimulação hormonal das gônadas para a maturação final dos gametas, manipulados então em laboratório (SILVA & SOLIS-MURGAS, 2007).

A reprodução da maioria dos peixes é sazonal e geralmente sincronizada com fatores ambientais que se adequam às necessidades metabólicas dos reprodutores incrementando a viabilidade dos gametas e favorecendo o desenvolvimento inicial da prole (VAZZOLER, 1996).

A obtenção de larvas de espécies migradoras em cativeiro depende entre outros fatores, da utilização de métodos de propagação artificial e existem vários tipos de substâncias usadas para induzir a reprodução em peixes que, conforme suas estruturas químicas agem segundo princípios diferentes. Além disso, a dose necessária de uma mesma substância varia conforme a espécie (BALDISSEROTTO, 2002), pois cada espécie obedece a um processo biológico reprodutivo distinto umas das outras, segundo Solis-Murgas et al. (2011).

Desta maneira, o estudo e o desenvolvimento de técnicas de reprodução induzida têm contribuído na conservação de *B. orbignyanus* pela produção de juvenis para a possível e posterior recuperação da população natural da espécie e pela sua conservação em locais ameaçados (MURGAS et al. 2004 apud in FELIZARDO et al. 2010).

A tecnologia de reprodução induzida evoluiu com a estimulação da liberação de gonadotrofina endógena de peixes tratados com o uso de análogos sintéticos de hormônio

liberador de gonadotrofinas, o GnRH pela criação do Método Linpe, em que o hormônio é combinado com um antagonista de dopamina (CHANG & PETER, 1983 apud in DAS, 2004).

O ovopel, como é chamado comercialmente, é um análogo de GnRH de mamífero, D-Ala6, Pro9Net-mGnRH e um antagonista do receptor de dopamina, a metoclopramida, solúvel em água e que foi desenvolvido pela Universidade de Godollo, na Hungria (DAS, 2004).

A aplicação de uma dosagem prévia de hormônio (0,2 5mg de análogo de GnRH/kg), antes de iniciar o tratamento com os análogos de GnRH, oferece maior produção qualitativa e quantitativa dos gametas, sendo que doses pequenas podem estimular o desenvolvimento gonadal, reduzindo as diferenças do estágio de maturação gonadal, possibilitando maior homogeneidade nos lotes (Zaniboni Filho e Barbosa, 1996 apud in Zaniboni Filho & Weingartner, 2007).

Diante disto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de diferentes dosagens de hormônio sintético na resposta à maturação final de reprodutores de *B. orbignyana* criados em cativeiro subsidiando desta maneira, estratégias para a conservação desta espécie.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA – ICMBio, localizado a 21°55'48" latitude sul, 47°22'28,1" longitude oeste, no município de Pirassununga, estado de São Paulo.

Para a realização do estudo foi utilizado um plantel de matrizes e reprodutores de piracanjubas criados no CEPTA, com 3 anos de idade, estocados em viveiros de 350 m³, na densidade de 300 g/m³ recebendo ração extrusada com 32% proteína bruta, três vezes por semana a 3% da biomassa. Foram utilizadas 10 fêmeas, e 30 machos (os quais não foram induzidos e utilizados somente para fertilização).



Figura 1 – Exemplar de *Brycon orbignyianus* (Valenciennes, 1849).

A seleção dos reprodutores baseou-se nos caracteres sexuais externos presentes somente no período reprodutivo, ou seja, os machos selecionados foram aqueles que apresentam espículas na nadadeira anal e que após leve pressão abdominal deixaram fluir o sêmen com aspecto leitoso ou mesmo transparente, para as fêmeas considerou-se aquelas que apresentaram o ventre abaulado e a papila urogenital avermelhada e ligeiramente proeminente (figura 2).

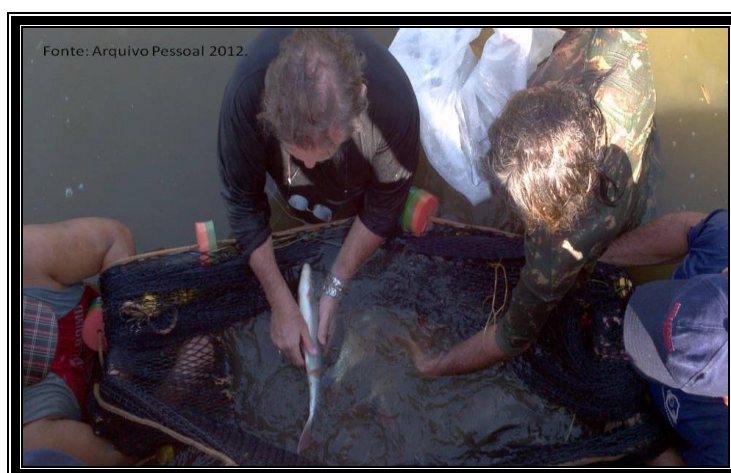


Figura 2 – Seleção dos Reprodutores.

Os peixes selecionados foram acondicionados em sacos plásticos contendo água do próprio viveiro e transportados para o laboratório de reprodução onde foram então colocados em um recipiente de polipropileno com capacidade de 50 litros, o qual continha solução

anestésica composta por água e mentol objetivando a diminuição dos níveis de estresse dos animais.

Todas as fêmeas foram marcadas com fios de diferentes cores e pesadas individualmente, em seguida, foram divididas em 2 grupos (Tratamentos T1 e T2).

O agente indutor selecionado para a maturação final foi o hormônio sintético, comercialmente chamado de Ovopel – D Ala⁶, Pro⁹. Net – m GnRH para ambos os grupos de fêmeas.

Para a preparação do agente indutor utilizou-se bolinhas do hormônio sintético com peso médio 3,0mg, diluído em solução fisiológica. A administração do hormônio sintético foi realizada de forma intracelomática.

O tratamento T1, composto por 5 fêmeas, foi submetido a uma única dose do hormônio sintético de 5,0mg/kg.

O tratamento T2, também composto por 5 fêmeas, recebeu cada uma delas, a dose preparatória de 0,5mg/kg e uma dose decisiva de 5,0mg/kg do mesmo hormônio utilizado no grupo 1, adotando um intervalo de 12 horas entre as aplicações.

No primeiro grupo, a temperatura da água das caixas de contenção de reprodutores foi aferida a partir da administração da primeira dose do hormônio.

No segundo grupo, a aferição da temperatura da água ocorreu depois da segunda dose.

A soma das temperaturas da água aferidas de hora em hora foram utilizadas para se determinar o melhor intervalo para a extrusão dos gametas. Essa soma é conhecida como Hora-grau, que quer dizer Unidade Térmica Acumulada (UTA).

A hora-grau descrita por Cecarelli et al., (2005) para a *B. orbignyana* é variável entre 130 a 180 horas-grau, como o demonstrado na tabela que mostra a representação do cálculo da hora-grau para a espécie *B orbignyana*.

A hora-grau foi calculada pela fórmula:

Hora-grau = TD2 · tA, onde TD2 é o tempo necessário para a desova a partir da administração da segunda dose e tA é a temperatura da água (°C).

Tabela 1. Representatividade do cálculo de hora-grau para a piracanjuba

Hora	Temperatura da Água	Soma	Hora-grau
18:00 (2ª dose)	28	-	-
19:00	28	-	28
20:00	27	28+27	55
21:00	27	28+27+27	84
22:00	26,5	28+27+27+26,5	108,5
23:00	26,5	28+27+27+26,5+26,5	135,00**
24:00	26,5	28+27+27+26,5+26,5+26,5	161,5**
01:00	26,5	28+27+27+26,5+26,5+26,5+26,5	188,00**

** horário provável de desova em resposta à indução hormonal.

Tabela: Relação entre aplicação de hormônios e horas-grau. Fonte: adaptada de Ceccarelli et al., (2005).

No tratamento T1, a desova ocorreu com 238,5 horas-grau e no T2 ocorreu com 145 horas-grau. A extrusão dos ovócitos e do líquido espermático ocorreu de maneira individual (figura 3 e 4).



Fonte: Arquivo Pessoal 2012.

Figura 3 – Extrusão de Ovócitos.



Figura 4 – Extrusão de Sêmen.

Os ovócitos foram depositados em recipientes plásticos secos e pesados individualmente separados para cada desova. De cada desova foi colhida uma pequena alíquota com média de 0,0464 g para a estimativa do número de ovócitos produzidos por fêmea (figura 5).

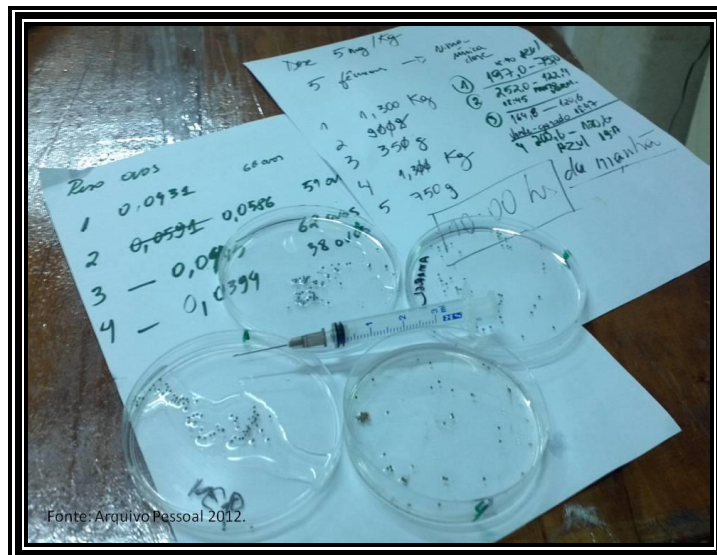


Figura 5 – Separação e contagem das alíquotas de ovócitos em placas de Petri.

Para a contagem das alíquotas, uma balança de precisão foi usada para pesar os ovócitos, que posteriormente receberam hidratação para a facilitação da contagem microscópica com o estereoscópico e contagem macroscópica.

A fertilização se deu após a mistura dos gametas masculinos com os femininos, ativados em água.

Os ovos fertilizados foram colocados em incubadoras de fibra de vidro tipo funil, com capacidade de 60 litros com fluxo de água contínuo. Depois, uma quantidade conhecida de 150 embriões foi colocada em separado num recipiente plástico vazado por tela fina e posteriormente analisar a taxa de eclosão (figura 6).



Figura 6 – Embriões de piracanjuba para estimativa da taxa de eclosão.

Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística usando o software Bioestat versão 5.3. do Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá.

3. RESULTADOS

As fêmeas do tratamento T1 responderam ao tratamento hormonal com 238,5 horas graus, enquanto que no tratamento T2 com 145 horas graus, a uma temperatura da água de 27,5°C. Os ovos recém extrusados apresentaram coloração verde oliva, que persistiu durante

todo processo embrionário, os dados de peso dos peixes e ovócitos, número de ovócitos por grama e ovos eclodidos estão representados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 . Resultados obtidos no tratamento com apenas uma dose hormonal.

Fêmeas	Peso dos peixes kg	ovócitos/g	Peso ovócitos (g)	Qtd ovócitos	Hora/ grau	Total de ovos eclodidos
1	1,300	1531	118,0	180696	238,5	0
2	0,900	879	129,6	209641	238,5	41.928
3	0,350	1393	44,2	61582,02	238,5	0
4	1,300	964	80	77157,36	238,5	0
5	0,750	*	*	*	*	*

*Não responderam ao tratamento hormonal.

Tabela 3. Resultados obtidos no tratamento com duas doses hormonais.

Fêmeas	Peso dos peixes kg	Ovócitos /g	Peso ovócitos (g)	Qtd ovócitos	Hora/ grau	Total de ovos eclodidos
1	1.580	928,3	207,8	192900	145	65.586
2	1.580	1021,8	200,3	204666	145	46.766
3	1,300	1142,4	89,0	101680	130	88.797
4	1,400	1071,0	104,40	111813	130	90.937
5	0,800	*	*	*	*	*

* Não respondeu ao tratamento.

3.1 Análise estatística.

Os resultados obtidos de peso das fêmeas, quantidade de ovócitos e eclosão das larvas foram submetidos à estatística descritiva e expressados como meia \pm desvio padrão de erros através do programa BioEstat© (Versão 5.0). Para a análise de produção de ovos foram feitos teste de normalidade e depois submetidos à análise estatística de ANOVA (1 critério) e Tukey consecutivamente.

Foram realizados os cálculos de média e desvio padrão para os dois grupos tratados.

T1: peso dos peixes (Kg) $0,92\pm 0,4$; número de ovócitos/g $953,4\pm 600,3$; peso dos ovócitos em gramas $74,3\pm 53,4$; quantidade total de ovócitos $105815,2\pm 87122,9$.

T2: peso dos peixes (Kg) $1,3\pm 0,3$; número de ovócitos/g $832,7\pm 471,9$; peso dos ovócitos em gramas $120,3\pm 86,2$; quantidade total de ovócitos $122211,8\pm 82554,4$.

O teste de normalidade de eclosão mostrou que houve diferença na porcentagem de eclosão dos ovos nos tratamentos com p-valor igual a 0,008 para o T1 e 0,3867 para T2.

O Teste de Anova e Tukey mostrou que houve diferença significativa entre a porcentagem de eclosão de ovos dos diferentes tratamentos, pois o p-valor foi inferior a 0,05 (0,02) e apesar de serem significativos entre taxa de eclosão, tais afirmações precisam ser avaliadas através de mais repetições dos protocolos usados no experimento.

Em relação ao peso e tamanho dos animais não houve diferença significativa, com p-valor 0,1082 superior a 0,05 e quanto à quantidade de ovos produzidos também não houve diferença significativa.

Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferença na resposta a desova, liberação e quantidade de ovócitos produzidos, pois quatro fêmeas de cada tratamento responderam a indução, enquanto que apenas uma do T1 produziu ovos viáveis, com eclosão, de 20% de larvas e o tratamento T2, 4 fêmeas liberaram ovócitos com eclosão das larvas em 34% (fêmea 1), 22,84% (fêmea 2), 87,32% (fêmea 3), 81,32% (fêmea 4).

O uso de duas dosagens de Ovopel® em piracanjuba estimula a liberação de ovócitos e produz larvas viáveis. As informações obtidas são fundamentais para o desenvolvimento de projetos de manejo e de conservação das populações mantidas em bancos genéticos “ex situ” cultivados desta espécie.

4. DISCUSSÃO

Segundo Zaniboni Filho e Weingartner (2007), os hormônios para a indução reprodutiva de peixes são hidrossolúveis, o que possibilita a fácil manipulação da dosagem almejada através de solução aquosa podendo ser feita em solução de 0,6% de NaCl. Sua aplicação é feita por via intramuscular, intraperitoneal ou intracelomática.

Por serem hidrossolúveis eles atingem a circulação sanguínea em minutos, sendo então metabolizados e excretados. A dose depende da maturação dos reprodutores, assim como da espécie e método de aplicação.

Neste trabalho, buscamos comparar a resposta hormonal dos indivíduos da espécie *Brycon orbignyianus* através da maturação final e ovulação (expulsão dos ovócitos) pela indução com o hormônio sintético D-Ala6, Pro9Net-mGnRH.

Fantini e Campos (2011a) mostraram dados semelhantes aos resultados obtidos neste trabalho com apresentação de resultados positivos satisfatórios na reprodução de curimatá (*Prochilodus lineatus*), com resposta a dois tratamentos, um com uma dose e o outro com duas doses do hormônio sintético.

Em outro trabalho de Fantini e Campos (2011b) com o peixe ximboré (*Schizodon borelli*), houve respostas aos dois tratamentos propostos com o D-Ala6, Pro9Net-mGnRH, porém com maior taxa de eclosão depois da indução com duas doses do que com uma.

Dumont-Neto (1997), mostrou que a indução realizada com EBHC (extrato bruto de hipófise de carpa), nas doses de 0,25 - 0,50 - 5,0 mg/kg de peso vivo em *B. orbignyianus*, propiciou a eficiência da desova entre as 26 fêmeas utilizadas em 96% delas, apenas uma não ovulou.

Em nosso experimento, pudemos constatar que o uso deste produto na reprodução de piracanjuba (*B. orbignyianus*) conforme o segundo grupo de tratamento que recebeu duas

doses do hormônio sintético, mostrou melhor taxa de eclosão acima inclusive do tratamento do grupo 1, na aplicação de só uma dose.

Normalmente fêmeas necessitam de doses maiores que os machos e estudos mostram que doses fracionadas trazem melhores resultados do que dose única, pois quando aplicados em distantes espaços de tempo, estimulam estádios iniciais de maturação das gônadas através da ativação de receptores hormonais (Zaniboni Filho & Weingartner, 2007). O que para esta espécie foi confirmado pelos tratamentos estabelecidos.

Diante do objetivo deste estudo frente à eficiência de diferentes dosagens hormonais de Ovopel (D Ala⁶, Pro⁹. Net – m GnRH), constatamos que nos dois tratamentos realizados, o T2 mostrou maior diferença em relação a taxa de fertilização.

A taxa de fertilização foi obtida através do número de ovos eclodidos demonstrando que, mesmo com o uso de um número pequeno de matrizes os resultados alcançados neste trabalho, foram melhores do que com o uso de EBHC descrito por Dumont- Neto (1997), para a espécie em questão.

O pequeno número de reprodutores utilizados se justificou pela fragilidade da espécie, causada principalmente pelos elevados níveis de estresse gerado a estas durante todo o manejo reprodutivo e pela dificuldade de obtenção de indivíduos *in situ* e *ex situ*.

Por meio deste estudo, conseguimos mostrar que por se tratar de uma espécie ameaçada, conforme avaliada pela UICN e sabendo que seus representantes são cada vez mais raros, essa é uma possibilidade de diminuir a letalidade dos animais ao fim do processo.

Neste experimento, foram utilizadas 10 fêmeas, valor menor ao de fêmeas do trabalho de Dumont-Neto (1997) onde se usou 26 matrizes. Tal diferença no número de fêmeas pode ajudar a manter os bancos genéticos da espécie, uma vez que a perda de indivíduos diminui ainda mais as chances de recuperação da espécie para estudo de repovoamento.

Quando analisamos as vantagens do uso do hormônio sintético, comercialmente conhecido como Ovopel ao uso de EBHC, pudemos verificar segundo os pontos estabelecidos porque inicialmente, o hormônio atua no começo da cadeia hormonal estimulando o peixe a produzir e sintetizar sua própria gonadotropina. Desta forma, elimina situações problemáticas do uso de gonadotropina de outras espécies animais. Sua molécula não age como espécie-específica e sua estrutura apresenta satisfatória estabilidade estrutural, de fácil fabricação e de grande efetividade em doses pequenas, sendo, portanto mais econômico.

Obtivemos uma taxa de eclosão de 8,38% para o primeiro tratamento e 58,41% para o segundo. Dumont-Neto (1997), utilizando de EBHC obteve taxa de eclosão com aproximadamente 12,32% no tratamento com mais de uma dose.

As vantagens apresentadas no presente trabalho demonstraram a possibilidade de ser representado como um bom protocolo para a conservação desta espécie, aumentando assim o seu potencial reprodutivo quando mantida em cativeiro.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais CEPTA/ICMBio e ao PIBIC/CNPq pela concessão da bolsa, aos meus pais Sílvia Cássia Domingues, Meire Santos Domingues ao irmão Pablo Santos Domingues e Rívian Santos Domingues de Souza por todo o incentivo e amor recebido mesmo estando todos distantes um do outro. Agradecer a Gilson Lima Vieira Filho pela dedicação e cumplicidade, à Tatiana Maria Mira Lopez por suas explicações minuciosas que organizaram um pouco minha cabeça, Daniela J. de Oliveira pelo enorme auxílio no experimento e estatística, à Izadora F. Bittencourt pelas caronas e risadas, ao Professor Orientador deste trabalho José Augusto Senhorini por sua paciência e amizade, à Rita de Cássia G. Alcântara Rocha pelos conselhos e correções, à Luís Alberto Gaspar pela boa vontade e auxílio nos tanques, à Maria Rita de Cássia Barreto Netto pela força e incentivo às reflexões, além de todos os outros funcionários e amigos que de certa forma interferiram positivamente para a realização deste estudo.

ETAPAS E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PLANO DE TRABALHO

Etapa 1 – Realização de levantamento bibliográfico (CONCLUÍDA).

Etapa 2 – Realização do experimento (indução hormonal, desova) (CONCLUÍDA).

Etapa 3 – Elaboração do primeiro relatório de acompanhamento da bolsista. (CONCLUÍDA).

Etapa 4 – Interpretação dos resultados. (CONCLUÍDA).

Etapa 5 – Elaboração do relatório final e encaminhamento do trabalho para publicação. (CONCLUÍDA).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A.; ZANIBONI FILHO, E.; LIMA, F. C. T.. **Brycon Orbygnianus, (Valenciennes, 1850)**. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. LIMA, F. C. T.; ROSA, R. S.. Capítulo: **Os Peixes Brasileiros Ameaçados de Extinção**. Volume II, Biodiversidade 19, Brasília-DF, 2008.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S.. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, v.27, n.2, p.166-172, Abr/Jun, 2003.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 212p. **Santa Maria: Ed. UFSM**, 2002.

BRESSAN, P. M.; KIERULFF, M. C. M.; SUGIEDA, A. M. Fauna ameaçada de extinção no estado de São Paulo- vertebrados. ISBN 978-85-63001-00-9. **Fundação Parque Zoológico de São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente**, 2009.

BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S.. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias: com chave de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco. **Minas Gerais: Ministério da Irrigação/CODEVASF**, 3 ED. Belo Horizonte, 115 p. 1988.

BUCKUP, P. A.; N. A. MENEZES. **Catálogo dos peixes marinhos e de água doce do Brasil**. 2003. 2ª ed. Disponível em: <http://www.mnrj.ufrj.br/catalogo/> (acesso em 12 de dezembro de 2012).

CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; REGO, R. F. Piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). In: Bernardo Baldisserotto; Levy Carvalho Gomes. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 1 ed. Santa Maria/RS: Editora da Universidade Federal de Santa Maria. p. 121-147, 2005.

CECILIO, E. B.; AGOSTINHO, A. A.; JULIO JR, H. F.; PAVANELLI, C. S. Colonização ictiofaunística do reservatório de Itaipu e áreas adjacentes. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 14 n. 1. p. 1-14. 1997.

CHANG, J. P. & PETER, R.E. Effects of pimozide and des Gly10,[D-Ala6] luteinizing hormone-releasing hormone ethylamide on serum gonadotropin concentrations, germinal vesicle migration and ovulation in female goldfish, *Carassius auratus*. **Gen.Comp.Endo.**52:30-37. 1983. Apud in DAS, S.K.. Evaluation of a New Spawning Agent, *Ovopel* in Induced Breeding of Indian Carps. **Asian Fisheries Science** 17: 313-322. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 2004.

CONTE. L.; BOZANO, G. L. N.; FERRAZ DE LIMA, J. A. Influência do sistema de alimentação no crescimento da piracanjuba *Brycon orbignyanus*, em gaiolas. **Boletim Técnico CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 49-59, 1995. Único.

DAS, S.K.. Evaluation of a New Spawning Agent, *Ovopel* in Induced Breeding of Indian Carps. **Asian Fisheries Science** 17: 313-322. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 2004.

DUMONT-NETO, R.; PELLI, A.; FREITAS, J. L.; COSTA, C. L.; FREITAS, A. E.; BARBOSA, N. D. C.. Reprodução induzida da Piracanjuba (*Brycon orbignyanus* VALENCIENNES, 1903) durante a primeira maturação sexual, cultivada em cativeiro na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta Grande-CEMIG. **B. Inst. Pesca** 24 (especial): 105 – 107, São Paulo-SP. 1997.

FANTINI, L. E.; CAMPOS, C. M.. a . Reprodução de Curimba *Prochilodus lineatus* submetidos a diferentes dosagens hormonais: Resultados Preliminares. **Anais do Encontro de Iniciação Científica – ENIC**, v. 1, n. 1 (3)2011. Disponível em: <http://periodicos.uems.br/novo/index.php/enic/article/view/570>. Acesso: 12/01/2013, as 05:54 horas.

FANTINI, L. E.; CAMPOS, C. M.. b. Ximborés *Schizodon borelli* induzidos a reprodução submetidos a diferentes dosagens hormonais. **Anais do Encontro de Iniciação Científica – ENIC**, v. 1, n. 1 (3)2011. Disponível em: <http://periodicos.uems.br/novo/index.php/enic/article/view/572>. Acesso: 12/01/2013, as 06:07 horas.

FELIZARDO, V. O.; MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; SILVA, J. A.. Dose inseminante utilizada na fertilização artificial de ovócito de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 648-652, set/out, 2010.

GODINHO, H. P. & GODINHO, A. L. Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. **Editora PUCMINAS**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003.

GODOY, M. P. Peixes do Brasil' subordem Characoidei; bacia do Rio Mogi Guassu. **Ed. Franciscana**, Piracicaba, v. 1, p. 1-216, 1975.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. **Biodiversity of Brazil: a synthesis of the current state of knowledge**. In: T.M. Lewinsohn & P.I. Prado (eds.). **Biodiversidade brasileira: síntese do estado do conhecimento atual**. pp. 139-144. **Contexto Acadêmica**, São Paulo. 2002.

LOPERA-BARRERO, N.M. **Diversidade genética de populações de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) com a técnica de RAPD**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá, 45 p. 2005.

MURGAS, L. D. S.; MILIORINI A. B.; FRANCISCATTO, R. T. & MARIA, A. N.. Viabilidade espermática do sêmen de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) resfriado a 4° C. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33:1361-1365. 2004. Apud in FELIZARDO, V. O.; MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; SILVA, J. A.. Dose inseminante utilizada na fertilização artificial de ovócito de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 648-652, set/out, 2010.

MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; PEREIRA, G. J. M. e FELIZARDO, V. O.. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. **Rev. Bras. Reprod. Anim. Supl.**, Belo Horizonte, n.6, p.70-76, dez. 2009.

OLIVEIRA, C.; AVELINO, G. S. A.; ABE, K. T.; MARIGUELA, T. C.; BENINE, R. C.; ORTI, G.; VARI, R. P. e CORRÊA E CASTRO, R. M.. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**, 11:275 doi:10.1186/1471-2148-11-275. 2011.

PONZETTO, J. M.; POLAZ, C. N. M.; ROCHA, R. C. G. A.; SENHORINI, J. A.; PORTO-FORESTI, F; FORESTI, F. Reprodução induzida de híbridos do gênero *Brycon* em cativeiro? Potencialidades e ameaças a conservação das espécies nativas. 8ª. Jornada Científica e Tecnológica da UFSCar, 2009, São Carlos. **Anais de Eventos da UFSCar** v. 5, 2009.

POVH, J. A. **Avaliação da diversidade genética e do manejo reprodutivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 75p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná. 2007.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T.. **Os Peixes Brasileiros Ameaçados de Extinção**. In: Ministério do Meio Ambiente, **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Volume II, **Biodiversidade**, 19, Brasília-DF, 2008.

ROSA, R. S.; MENEZES, N. A.. **Relação preliminar das espécies de peixes (pisces, elasmobranchii, actinopterygii) ameaçadas no Brasil** Revta bras. Zool. 13 (3): 647 - 667,1996.

SILVA, J. M. A.; SOLIS-MURGAS, L. D.. **Características reprodutivas de curimba (*Prochilodus lineatus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, para a obtenção do título de “Mestre”. LAVRAS, MG – BRASIL, 2007.

SOLIS-MURGAS, L. D.; FELIZARDO, V. O.; FERREIRA, M. R.; VERAS, G. C.. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.186-191, abr./jun. 2011.

SONSTEBE, J. H.; BORGSTROM, R.; HEUN, M. Genetic structure of brown trout (*Salmo trutta L.*) from the Hardangervidda mountain plateau (Norway) analyzed by microsatellite DNA: a basis for conservation guidelines. **Conservation Genetics, Dordrecht**, v. 8, n. 1, p. 33-44. 2007.

VAZZOLER, A.E.A .M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: **EDUEM**, 196p, 1996.

ZANIBONI FILHO, E. & WEINGARTNER, M.. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, jul./set. 2007.

ZANIBONI FILHO, E. & BARBOSA, N. D. C.. Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. *Rev Bras Biol*, v.56, p.655-659, 1996. Apud in ZANIBONI FILHO, E. & WEINGARTNER, M.. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, jul./set. 2007.

ZANIBONI FILHO, E.; SCHULZ, U. H. **Migratory Fishes of the Uruguay River**. In' CAROLSFELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C. AND BAER, A. (Eds.) **Migratory Fishes of the South America' Biology, Social Importance and Conservation Status**. Victoria, Canada, p. 157-194. **World Fisheries Trust**. 2003.