

INDUÇÃO DA DESOVA DO ROBALO-PEVA, *Centropomus parallelus*, ATRAVÉS DE INJEÇÃO E IMPLANTE DE LHRHa

[Spawning induction of fat snook, *Centropomus parallelus*, through injection and LHRHa implant]

Eduardo de Medeiros FERRAZ^{1,5}, Vinicius Ronzani CERQUEIRA², Luis ALVAREZ-LAJONCHÈRE³, Sidnei CANDIDO⁴

¹ Pesquisador Científico – Instituto de Pesca – apta – SAA/SP

² Professor Titular – Universidade Federal de Santa Catarina, CCA, Departamento de Aquicultura, CP 476 CEP: 88040-970 – Florianópolis – SC. E-mail: vrqueira@cca.ufsc.br

³ Pesquisador Visitante (CNPq) do Departamento de Aquicultura – UFSC, Pesquisador do Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente – La Habana – Cuba.

⁴ Engenheiro Agrônomo, bolsista PIBIC-CNPq, graduado pela UFSC.

⁵ Endereço/Address: Av. Francisco Matarazzo, 455 – CEP: 05001-900 e-mail: emferraz@sp.gov.br

RESUMO

A eficiência da utilização do análogo do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRHa) foi testada na indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. De janeiro a maio de 1999 foram realizados dois experimentos com reprodutores (42 fêmeas de 525 a 1620 g e 84 machos de 324 a 1041 g) submetidos a três tratamentos: injeção, na dose de 50 mg/kg, de LHRHa diluído em solução salina, implante de “pellet” de colesterol com a mesma dose do hormônio e o tratamento controle, com aplicação de “pellet” de colesterol sem LHRHa. As fêmeas geralmente desovaram uma única vez, 35 a 42 h após aplicação hormonal. Duas fêmeas que receberam implante desovaram duas vezes com intervalo de 24 h. Em relação aos tratamentos, não se verificou diferença significativa ($P>0,05$) entre os valores de produção de óvulos, de ovos fertilizados e das taxas de fertilização e eclosão. No primeiro experimento, o tratamento com “pellet” apresentou produção média de ovos de $42,27 \times 10^4$ /kg e taxa média de fertilização de 75,8% e de eclosão de 89,5%. Com injeção, a produção de ovos foi de $87,11 \times 10^4$ /kg (desova de uma única fêmea) e taxa de fertilização e a de eclosão, de 99,0%. No segundo experimento, o tratamento com “pellet” resultou na produção média de ovos de $45,12 \times 10^4$ /kg e taxas médias de fertilização e de eclosão, respectivamente, de 93,8% e 88,0%. Com injeção observou-se produção média de ovos de $41,01 \times 10^4$ /kg e taxas médias de fertilização e de eclosão, respectivamente, de 94,5% e 80,5%. Estes resultados sugerem que as metodologias utilizadas neste trabalho são promissoras para a reprodução induzida do robalo-peva.

Palavras-chave: reprodução; “pellet” de hormônio; LHRHa; robalo-peva; *Centropomus parallelus*

ABSTRACT

The efficiency of the use of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) was tested for the spawning induction of the fat snook, *Centropomus parallelus*. From January to May 1999, two experiments were carried out. Forty-two females, 525-1580 g, and 84 males, 324-1041 g, were submitted to three treatments: injection of 50 μ g/kg of LHRHa diluted in saline solution, implantation of a cholesterol pellet with the same dose of the hormone and control, with implantation of a cholesterol pellet without LHRHa. Fish normally spawned once, 35 - 42 h after the hormone was taken. Two females, with cholesterol pellets implanted, spawned twice in a 24 h interval. Considering treatments, there were no significant differences ($P>0.05$) between the production of eggs and fertilized eggs, and the rates of fertilization and hatching. In the first experiment, the pellet treatment resulted in a mean egg production of 42.27×10^4 /kg, a mean fertilization rate of 75.8% and hatching rate of 89.5%. The injection treatment resulted in a mean egg production of 87.11×10^4 /kg in a single spawning, with fertilization and hatching rates of 99.0% (spawning of one single female). In the second experiment, the pellet treatment resulted in an average egg production of 45.12×10^4 /kg, and average fertilization and hatching rates of 93.8% and 88.0%, respectively. With the injection treatment, average egg production was 41.01×10^4 /kg and average fertilization and hatching rates were 94.5% and 80.5% respectively. These results suggest that the methodologies used in this work are promising to the induced reproduction of fat snook.

Key words: reproduction; pellet of hormone; LHRHa; fat snook; *Centropomus parallelus*

Introdução

A crescente demanda de proteína animal de qualidade para alimentação humana determina a necessidade da utilização de fontes alternativas de produção, destacando-se a aquicultura como atividade promissora para este fim. A piscicultura, neste contexto, contribui com praticamente metade da produção global da aquicultura (FAO, 1999).

No Brasil, a maioria dos estudos referentes à piscicultura estão voltados para peixes de água doce, o que permitiu a crescente importância da piscicultura continental. Entretanto o mesmo não ocorre em relação à piscicultura marinha, sendo relativamente recente o esforço para obtenção de dados que permitam a adequada orientação da produção comercial. O robalo-peva, *Centropomus parallelus*, peixe de regiões estuarinas, apresenta um potencial elevado para cultivo, em razão de fatores, como a boa qualidade de sua carne, e por ser apreciado na pesca esportiva. No entanto ainda são necessários estudos que tragam mais informações sobre a obtenção da maturação em cativeiro, reprodução, larvicultura e engorda.

Segundo ZOHAR *et al.* (1995), um dos fatores fundamentais para o sucesso do desenvolvimento da piscicultura é a produção garantida de ovos e larvas, principalmente se considerado que muitas espécies não desovam ou desovam de maneira imprevisível em condições de cativeiro. A solução para este problema pode estar no uso de hormônios de pequena estrutura molecular, como o decapeptídeo LHRH (hormônio liberador do hormônio luteinizante), que interfere indiretamente na produção de hormônios gonadotróficos, indispensáveis na maturação final e desova dos peixes. O LHRH tem-se mostrado bastante eficiente na reprodução de peixes marinhos (HARVEY e CAROLSFELD, 1993). No entanto sua ação na circulação sanguínea do peixe é normalmente de curta duração quando aplicado por injeção (SHERWOOD *et al.*, 1988; ZOHAR *et al.*, 1995). Sendo assim, tentativas de prolongar a liberação do hormônio na corrente sanguínea foram efetivas

através do uso de implantes com matriz de colesterol (“pellet”). O resultado desta liberação prolongada em espécies como o robalo asiático, *Lates calcarifer*, foi a obtenção de várias desovas após aplicação de um único “pellet” (ALMENDRAS *et al.*, 1988; GARCIA, 1989). Desse modo, o objetivo do presente estudo foi estabelecer o melhor método de produção de ovos e larvas da espécie *C. parallelus*, comparando o uso de um análogo do LHRH através de implantes com matriz de colesterol e injeção de LHRH em solução salina.

Material e Métodos

No laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis, Brasil, latitude 27° 37' S e longitude 48° 30' W, foram conduzidos, de janeiro a maio de 1999, dois experimentos de técnicas de administração de hormônio no robalo-peva, *Centropomus parallelus*.

No primeiro experimento, denominado “Experimento I”, foram utilizados reprodutores de três a quatro anos de idade, nascidos no laboratório e cultivados em tanques-rede flutuantes, em viveiro externo, abastecido com água estuarina com salinidade variando de 20 a 30‰. A partir de setembro de 1998, 90 indivíduos foram transferidos para tanques de concreto localizados no laboratório. Na transferência, os peixes foram anestesiados com solução de benzocaína (50 ppm) e adaptados, gradualmente, à salinidade de 33‰.

No segundo experimento, denominado “Experimento II”, foram utilizados reprodutores procedentes de cultivo no próprio laboratório e outros capturados no ambiente natural e mantidos no laboratório desde 1997, em tanques de concreto com sistema de filtração biológica da água com 33‰ de salinidade.

Os tanques de concreto utilizados nos dois experimentos tinham dimensões de 4,8 m de comprimento, 1,8 m de largura e 1,2 m de profundidade e volume útil de 8.000 litros. No “Experimento I”, a renovação da água dos tanques foi feita, diariamente, na base de 50 a 100% do volume. Para o “Experimento II”, considerando-

se a existência do sistema de filtração biológica, apenas 5 a 10 % da água era renovada diariamente. Em ambos experimentos, os reprodutores foram alimentados três vezes ao dia, com uma dieta preparada no laboratório e composta de cerca de 49% de proteína bruta.

Para facilitar a identificação visual dos reprodutores, foi feita a marcação de cada indivíduo, com conta colorida fixada no pedúnculo caudal através de uma presilha plástica.

As técnicas aplicadas na indução da reprodução, nos dois experimentos, foram as mesmas, utilizando-se o hormônio LHRHa, D-Ala⁶-des-Gly¹⁰ LHRH etilamida (Syndel International Inc., Vancouver, BC Canada). Foram previstos três tratamentos: hormônio através de injeção (TI), hormônio através de “pellet” de colesterol (TII) e controle, com “pellet” de colesterol sem hormônio (TIII). Baseando-se em testes preliminares realizados no próprio laboratório, optou-se pela dose de 50 µg/kg de peso vivo de LHRHa para fêmeas e machos, nos dois tratamentos com hormônio.

O preparo da solução hormonal para injeção foi feito dissolvendo-se 5 mg do produto liofilizado em 5 mL de soro fisiológico (0,9% de NaCl). A solução foi fracionada em porções de 200 µL e mantida sob refrigeração (± 4 °C). No dia da indução de desova, cada dose foi diluída até completar o volume de 1 mL. O volume a ser injetado foi calculado em função do peso do peixe. A injeção foi aplicada com seringa hipodérmica de 1 mL na musculatura, entre as nadadeiras dorsais, acima da linha lateral.

A composição dos “pellets” de colesterol com LHRHa baseou-se nos trabalhos desenvolvidos por LEE; TAMARU; KELLEY (1986) e GARCIA (1989). Uma solução foi feita com 5 mg do hormônio em 1 mL de álcool etílico (P.A.) a 50%. Uma matriz (veículo) foi preparada com 95% de colesterol em pó (5-Cholesten-3B-OL, da Merck Index 11, 2204) e 5% de manteiga de cacau pura (Realmart, Canadá). A solução hormonal foi incorporada à matriz de forma homogênea, visando a confecção de “pellets” de 30 mg, contendo 25, 30, 35 e 40 µg de LHRHa. Os “pellets” foram moldados em uma placa

de resina acrílica com 2 cm de espessura contendo perfurações. A matriz com hormônio foi prensada nos orifícios, obtendo-se “pellets” cilíndricos com aproximadamente 2,3 mm de diâmetro por 3,0 mm de comprimento. “Pellets” sem adição de LHRHa foram preparados da mesma forma para o tratamento controle.

O implante do “pellet” foi feito na mesma região escolhida para injeção, utilizando uma seringa confeccionada conforme o modelo utilizado por LEE; TAMARU; KELLEY (1986). Uma incisão na musculatura foi feita com bisturi cirúrgico para facilitar a introdução da agulha. Após o implante fez-se um tratamento no local, com mercúrio cromo e pomada de Garamicina.

De janeiro a maio de 1999, foram programados quatro ciclos de indução de desova dos reprodutores de cada experimento. Para o “Experimento I” foram selecionadas 16 fêmeas e 12 machos por ciclo de desova, e para o “Experimento II”, 5 fêmeas e 10 machos por ciclo. Cada ciclo de desova durou em média quatro dias, desde a aplicação do hormônio até a eclosão dos ovos. Foi mantido um intervalo mínimo de 15 dias entre cada ciclo, nos dois experimentos realizados.

No “Experimento I” foram induzidas um total de 24 fêmeas, com comprimento total de 34,0 a 43,5 cm e peso total de 525 a 892 g, e 48 machos, com comprimento total de 31,7 a 45,0 cm e peso total de 324 a 931 g. No “Experimento II” foram induzidos um total de 18 fêmeas, com comprimento total de 41,5 a 52,5 cm e peso total de 818 a 1620 g, e 36 machos com comprimento total de 36,0 a 47,0 cm e peso total de 400 a 1.041 gramas.

Os reprodutores foram selecionados para cada ciclo de desova da seguinte maneira: as fêmeas, através da presença de ovócitos vitelogênicos na biópsia ovariana (SHEHADEH; KUO; MILISEN, 1973), e os machos, pela liberação de sêmen após massagem abdominal. Os peixes selecionados foram separados aleatoriamente para cada um dos tratamentos, anestesiados (benzocaína a 50 ppm), pesados, medidos e marcados. Com a determinação dos pesos, foram estabelecidas as quantidades de hormônio a serem aplicadas.

Para cada ciclo de desova, apenas uma fêmea e dois machos foram colocados por tanque. No ciclo seguinte, somente as fêmeas que não haviam sido anteriormente tratadas foram induzidas à reprodução.

A coleta dos ovos foi feita com o aumento do fluxo de água dos tanques para uma drenagem superficial direcionada para uma incubadora cônica de 40 L. Na ocorrência de desova foram adotados dois procedimentos para a estimativa do número de ovos produzidos: amostragem de 1 L de água da incubadora e recolhimento de 10 amostras de 1 L do tanque de desova. Da amostra da incubadora, após homogeneização, retirou-se, com pipeta de Bogorov (ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 1983), uma alíquota de 7,5 mL da amostra e procedeu-se à contagem dos ovos em placa de Petri sob estereomicroscópio. O processo foi repetido quatro vezes e calculada a média. A amostra de 10 L (mistura das 10 amostras de 1 L) retirada do tanque foi filtrada (malha de 400 μ m) e contados todos os ovos como anteriormente citado.

A taxa de fertilização foi calculada com base na relação entre número de ovos fertilizados e número total de ovos (fertilizados e não). Para a determinação da taxa de eclosão, de cada desova foram retiradas três amostras de ovos que tivessem aproximadamente 1.000 ovos (entre ovos fertilizados e não fertilizados) e cada uma colocada em um balde com 10 L de água. No dia seguinte, após agitação da água, retirou-se de cada balde uma amostra de 1 L, que foi filtrada em malha de 400 μ m. A taxa de eclosão (%) foi calculada relacionando-se o número de larvas viáveis na amostra em relação ao total de ovos não eclodidos, larvas mal formadas e larvas viáveis. Foi estimado ainda o número de larvas por quilo de fêmea, em função da taxa de fertilização e de eclosão.

Nos dois experimentos fez-se uma análise de variância unifatorial, com $\alpha = 0,05$, para as variáveis: número de óvulos produzidos e ovos fertilizados, taxas de fertilização (%) e eclosão (%), segundo GOMES (1990). As porcentagens foram transformadas em valores de arco-seno.

Para cada tratamento foram também determinadas a taxa de desova (relação entre número de desovas e

número de induções, em %) e a taxa de desova com fertilização (relação entre número de desovas com fertilização e número de induções, em %). Estes resultados foram analisados em uma tabela de contingência (2 x 2) pelo método de χ^2 , com $\alpha = 0,05$. Como o número de observações foi inferior a 30, utilizou-se o teste de Fisher para verificação de dependência (LEVIN, 1987).

Resultados

Após o tratamento hormonal, os reprodutores foram devolvidos aos tanques de concreto, cuja água foi renovada em 100%. Durante os ciclos de desova foram verificados os seguintes valores dos parâmetros de qualidade de água: temperatura 23,5 a 28,1°C, salinidade 33 a 34‰, pH 8, oxigênio 4,0 a 6,9 mg/L, amônia 0 mg/L e nitrito < 0,1 mg/L.

Os resultados das induções à desova com LHRHa, do “Experimento I”, estão apresentados na tabela 1. Verificou-se, entre a aplicação do hormônio e a desova, um período de latência de 35 a 42 horas, tanto na aplicação com injeção (TI), como com “pellet” (TII). Nenhuma desova foi observada no tratamento controle (TIII). As desovas no (TII) apresentaram uma produção de óvulos/kg fêmea que variou de $35,47 \times 10^4$ a $78,10 \times 10^4$ e no (TI) estes valores variaram de $27,74 \times 10^4$ a $87,73 \times 10^4$. No (TI), apenas em uma desova ocorreu fertilização dos óvulos, sendo o número destes igual a $87,11 \times 10^4$ /kg de fêmea, no (TII), este número variou de $10,61 \times 10^4$ a $64,98 \times 10^4$. A taxa de fertilização variou de 29,0 a 98,0% no (TII), e no único resultado do (TI) foi de 99,0%. A taxa de eclosão variou de 83,0 a 96,0% em (TII) e foi de 99,0 % no único resultado do (TI). O número de larvas/kg fêmea variou de $8,81 \times 10^4$ a $58,48 \times 10^4$ em (TII) e foi de $86,24 \times 10^4$ na única desova com ovos fertilizados de (TI).

Em razão da ocorrência de apenas uma desova com fertilização no (TI), não foi possível estabelecer comparação entre o número de ovos fertilizados, as taxas de fertilização e as de eclosão.

Tabela 1. Resultados das induções de desova de reprodutores de robalo-peva, *Centropomus parallelus*, do “Experimento I” com dose de 50 µg/kg de peso vivo de LHRHa, através de injeção (TI), de “pellet” (TII) e o controle-“pellet” sem hormônio (TIII)

Tratamento	Peso da fêmea (g)	Diâmetro médio dos ovócitos (µm)±ep ^(*)	Óvulos/kg (x10 ⁴)	Ovos/kg (x10 ⁴)	Taxa de Fertilização (%)	Taxa de Eclosão (%)	Larvas/kg (x10 ⁴)
TI	586,0	405 ± 3	-	-	-	-	-
TI	626,0	400 ± 3	-	-	-	-	-
TI	799,0	410 ± 3	87,73	87,11	99,0	99,0	86,24
TI	888,0	406 ± 3	44,03	0	-	-	-
TI	745,0	410 ± 2	-	-	-	-	-
TI	823,0	416 ± 3	47,71	0	-	-	-
TI	763,0	408 ± 3	-	-	-	-	-
TI	867,0	400 ± 2	-	-	-	-	-
TI	892,0	413 ± 2	-	-	-	-	-
TI	829,0	413 ± 4	27,74	0	-	-	-
Média	781,8		51,80	87,11	99,0	99,0	86,24
TII	670,0	404 ± 2	-	-	-	-	-
TII	763,0	403 ± 2	63,36	53,50	84,0	89,0	47,62
TII ^(**)	580,0	409 ± 3	78,10	64,98	92,0	90,0	58,48
TII	882,0	409 ± 2	-	-	-	-	-
TII	665,0	412 ± 2	40,90	40,00	98,0	96,0	38,40
TII	640,0	408 ± 3	-	-	-	-	-
TII	654,0	409 ± 4	35,99	10,61	29,0	83,0	8,81
TII	749,0	400 ± 3	-	-	-	-	-
TII ^(***)	596,0	407 ± 3	35,47	0	-	-	-
TII	581,0	411 ± 2	45,28	0	-	-	-
Média	678,0		49,85	42,27	75,8	89,0	38,33
TIII	629,0	395 ± 3	-	-	-	-	-
TIII	525,0	411 ± 3	-	-	-	-	-
TIII	779,0	393 ± 3	-	-	-	-	-
TIII	626,0	403 ± 4	-	-	-	-	-
Média	639,8						

(*) ep = erro padrão

(**) fêmea desovou duas vezes, com aplicação de um único “pellet”, com intervalo de 24 horas

(***) fêmea desovou 48 horas após a indução

Uma das fêmeas utilizadas em (TII) (**) realizou duas liberações de óvulos com intervalo de 24 horas entre elas. Os dados da produção desta fêmea foram somados e as taxas de fertilização e eclosão correspondem às médias dos dois resultados. Outra fêmea do (TII) (***) realizou a desova com intervalo de 48 horas.

Em relação às taxas de desova, o (TII) resultou nos maiores valores (Tabela 2). Entretanto, o teste estatístico não mostrou diferenças significativas (P>0,05).

Tabela 2. Estimativa das taxas de desova obtidas com injeção de LHRHa (TI) ou implante de “pellet” com LHRHa (TII) em fêmeas do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, do “Experimento I”

Tratamento	Desovas (%)	Desovas c/ fertilização (%)
TI	40,0	10,0
TII	60,0	40,0

Tabela 3. Resultados das induções de desova de reprodutores de robalo-peva, *Centropomus parallelus*, do “Experimento II” com dose de 50 µg/kg de peso vivo de LHRHa, através de injeção (TI), “pellet” (TII) e o controle - “pellet” sem o hormônio (TIII)

Tratamento	Peso da fêmea (g)	Diâmetro médio dos ovócitos (µm)±ep ^(*)	Óvulos/kg (x10 ⁴)	Ovos/kg (x10 ⁴)	Taxa de Fertilização (%)	Taxa de Eclosão (%)	Larvas/kg (x10 ⁴)
TI	938,0	419± 2	79,03	77,61	98,0	87,0	67,52
TI	1073,0	411 ± 2	34,14	33,91	99,0	89,0	30,18
TI	1150,0	412 ± 1	-	-	-	-	-
TI	1165,0	416 ± 2	71,42	70,30	98,0	83,0	58,35
TI	940,0	413 ± 2	4,07	0	-	-	-
TI	1103,0	419 ± 3	36,74	34,43	94,0	97,0	33,40
TI	1620,0	403 ± 2	17,30	14,73	85,0	48,0	7,07
TI	957,0	412 ± 3	16,18	15,06	93,0	79,0	11,90
Média	1118,3		36,99	41,01	94,5	80,5	34,74
TII	1557,0	411 ± 2	-	-	-	-	-
TII	1004,0	423 ± 2	33,17	30,10	91,0	93,0	27,99
TII	1488,0	416 ± 2	7,76	0	-	-	-
TII	1095,0	419 ± 2	-	-	-	-	-
TII	1580,0	406 ± 2	34,81	32,51	93,0	81,0	26,33
TII (**)	967,0	415 ± 2	76,91	74,57	98,0	96,0	71,59
TII	962,0	405 ± 2	-	-	-	-	-
TII	1127,0	413 ± 2	46,73	43,31	93,0	82,0	35,51
Média	1222,5		39,88	45,12	93,8	88,0	40,36
TIII	849,0	419 ± 2	-	-	-	-	-
TIII	818,0	418 ± 2	-	-	-	-	-
Média	833,5						

(*) ep = erro padrão

(**) fêmea liberou óvulos duas vezes, com aplicação de um único “pellet”, com intervalo de 24 horas

Os resultados das induções de desova com LHRHa obtidos no “Experimento II” estão apresentados na tabela 3. Verificou-se, como no “Experimento I”, período de latência de 35 a 42 horas para os dois tipos de tratamento hormonal aplicados no “Experimento II”; da mesma forma, também nenhuma desova foi observada com o tratamento controle (TIII). Nas desovas com (TII) verificou-se uma produção de óvulos/kg de fêmea que variou de 7,76 x 10⁴ a 76,91 x 10⁴, e com (TI) estes valores variaram de 4,07 x 10⁴ a 79,03 x 10⁴.

O número de ovos fertilizados/kg de fêmea foi de 30,10 x 10⁴ a 74,57 x 10⁴ com (TII), e de 14,73 x 10⁴ a 77,61 x 10⁴ com (TI). A taxa de fertilização variou de 91,0 a 98,0% com a utilização de (TII) e de 85,0 a 99,0% com (TI). A taxa de eclosão variou de 81,0 a 96,0% com (TII), e de 48,0 a 97,0% com (TI). A produção de larvas/kg de fêmea variou

de 26,33 x 10⁴ a 71,59 x 10⁴ com uso do (TII) e de 7,07 x 10⁴ a 67,52 x 10⁴ com (TI).

Na análise de variância aplicada aos dados de produção de óvulos e ovos não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos (P>0,05). Também não foram observadas diferenças significativas tanto entre as taxas de fertilização quanto de eclosão, obtidas nos tratamentos com diferentes técnicas de administração hormonal (P>0,05).

Uma das fêmeas do (TII) (**) apresentou duas liberações de óvulos, com um intervalo de 24 horas. Os dados da produção desta fêmea foram somados e as taxas de fertilização e eclosão são médias dos dois resultados.

Em relação às taxas de desova, o (TI) resultou nos maiores valores quando comparados aos do (TII) (Tabela 4), entretanto o teste estatístico não mostrou diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos.

Tabela 4. Estimativa das taxas de desova obtidas com injeção de LHRHa (TI) ou implante de “pellet” com LHRHa (TII) em fêmeas de robalo-peva, *Centropomus parallelus*, do “Experimento II”

Tratamento	Desovas (%)	Desovas c/ fertilização (%)
TI	87,5	75,0
TII	62,5	50,0

Discussão

Os resultados das desovas obtidas nos dois experimentos não permitiram determinar diferença significativa entre as produções de ovos com as diferentes técnicas de administração hormonal aplicadas. TEIXEIRA e CERQUEIRA (1997) relataram, para desovas de mesma espécie, uma pequena superioridade na obtenção de ovos por quilo de peixe vivo com a utilização de hCG em relação ao uso de LHRHa. ALMENDRAS *et al.* (1988), ao compararem o desempenho da desova do robalo asiático, *Lates calcarifer*, frente a diferentes formas de administração de LHRHa, verificaram a necessidade da aplicação de duas ou mais injeções de LHRHa, para se obterem resultados semelhantes aos obtidos com aplicação em uma única dose de LHRHa em “pellet” de colesterol.

O número de ovos por quilo de peixe vivo, obtido nas desovas ocorridas nos dois experimentos deste estudo foram superiores aos relatados por MIOSO (1995) e CERQUEIRA (1995), para desova induzida da espécie, com uso de hCG, e por TEIXEIRA e CERQUEIRA (1997), com o uso de hCG e LHRHa. Isto talvez se explique, em parte, pela ocorrência de apenas desovas naturais na condução do presente trabalho (sem extrusão dos gametas), mas, por outro lado, estes dados são similares aos encontrados por GARCIA (1989) e GARCIA (1990) para robalo asiático, *Lates calcarifer*.

Em relação ao primeiro experimento deste trabalho, verificou-se um número muito baixo de desovas no tratamento com injeção de LHRHa (TI). Isto pode ser decorrente da menor adaptação dos peixes aos tanques de desova, ocorrida no

experimento. Da mesma forma, o melhor desempenho obtido no tratamento com “pellet” contendo LHRHa, neste caso, pode ser explicado pela forma da liberação do hormônio. Apesar de não serem registradas diferenças entre os resultados dos dois tratamentos hormonais, apenas as fêmeas que receberam “pellet” com o hormônio tiveram duas desovas. Isso poderia ser resultado do mecanismo de liberação gradual do hormônio no organismo do animal. SHERWOOD *et al.* (1988) determinaram taxas graduais de liberação do hormônio LHRHa em “pellets” com matriz de 95 a 100% de colesterol. Esta liberação prolongada, segundo aqueles autores, seria potencialmente interessante para peixes que requerem mais dias para a maturação final dos ovários ou para peixes que desovam por vários dias sucessivos. HARVEY *et al.* (1985) utilizaram “pellets” de 95% de colesterol com concentrações de 25 a 50 µg de LHRHa no robalo asiático, *Lates calcarifer*, obtendo apenas uma desova por fêmea. Já ALMENDRAS *et al.* (1988) obtiveram múltiplas desovas para aquela mesma espécie, utilizando até cinco “pellets” de colesterol com GnRHa (100 µg/cada) em uma única aplicação, com maior produção de ovos nos primeiros dois dias de desova e menor nas desovas subseqüentes. GARCIA (1989) obteve bons resultados também com *Lates calcarifer*, registrando até quatro dias consecutivos de desovas com a aplicação de um único “pellet” de colesterol com doses de LHRH de 37,5 a 75 µg/kg. O mesmo autor também observou diminuição da produção de ovos nas desovas ao longo do tempo. Desovas múltiplas com o uso de “pellets” de 95% de colesterol com LHRHa foram descritas ainda para os linguados, *Paralichthys dentatus* (WATANABE *et al.*, 1998); *Paralichthys lethostigma* (BERLINSKY *et al.*, 1996) e *Pleuronectes ferrugineus* (LARSSON *et al.*, 1997).

Em relação ao diâmetro médio dos ovócitos obtidos através de biópsia ovariana, a fim de determinar o grau de desenvolvimento gonadal, verificou-se que em média foram superiores a 400 µm, estando de acordo com os resultados positivos descritos por MIOSO (1995), CERQUEIRA (1995) e

GODINHO *et al.* (2000), na reprodução induzida do robalo *C. parallelus*.

As desovas, nos experimentos deste trabalho, ocorreram no período noturno. No caso de ovos fertilizados, foi possível estimar o horário provável da liberação dos gametas em função da fase de desenvolvimento do embrião. O período de latência entre a aplicação do hormônio e a desova foi de 35 a 42 horas. CERQUEIRA (1995) relatou, para o robalo *C. parallelus* criado em cativeiro, um período de latência após aplicação de hCG de aproximadamente 40 horas. GODINHO *et al.* (2000) relataram, para exemplares da mesma espécie, capturados na natureza, um período de latência de 35 horas após a aplicação de hCG. GARCIA (1992) relatou, para o robalo asiático, *L. calcarifer*, período de latência de 30 a 48 h após aplicação de LHRHa.

A boa qualidade dos ovos obtidos nos dois experimentos do presente estudo ficou evidenciada pelas altas taxas de fertilização e eclosão registrados nos dois tratamentos hormonais, não havendo, entretanto, diferenças significativas. Os valores obtidos foram ligeiramente superiores aos relatados em trabalhos prévios. CERQUEIRA (1995) obteve taxas de fertilização e de eclosão de 70,0% e 86,4% respectivamente, para *C. parallelus*, após a utilização de hCG. MIOSO (1995), para a mesma espécie, obteve eclosão ao redor de 50,0% com o uso de hCG. ALMENDRAS *et al.* (1988) relataram que o uso de “pellets” de colesterol com GnRH_a em *L. calcarifer* determinou taxas de fertilização (40,0-86,0%) e de eclosão (8,0-81,0%) bastante variáveis. GARCIA (1989) relatou, também para *L. calcarifer*, médias de 60,5 a 82,2% de fertilização e 30,0 a 76,5% de eclosão, utilizando “pellet” com LHRHa.

Embora no presente trabalho não tenham ocorrido diferenças significativas nos resultados do emprego do hormônio LHRHa através de injeção (TI) ou de “pellet” de colesterol (TII), houve uma tendência para obtenção de desovas consecutivas com a aplicação do produto através de “pellet”, indicando que, através deste método, a liberação do hormônio se prolonga por um certo período.

Conclusões

A aplicação de LHRHa, na dose de 50 µg/kg, foi eficiente na obtenção de desovas de robalo-peva, *Centropomus parallelus*, tanto através de implante de “pellet” quanto através de injeção.

Não houve influência do método de administração do hormônio na produção de ovos e larvas.

Uma única aplicação de LHRHa, através do implante de “pellet”, foi efetiva na obtenção de desovas consecutivas em duas das fêmeas induzidas.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelo apoio ao projeto através da bolsa de Mestrado ao primeiro autor, e ao Programa Brasileiro de Intercâmbio em Maricultura – BMLP (CIDA, Canadá), pelos diversos recursos oferecidos ao projeto. Aos funcionários e colegas do Laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo apoio e colaboração. Ao Pesquisador Científico Benedito do Espírito Santo, do Instituto de Zootecnia, e ao Prof. Alex de Oliveira Nuñez, da Universidade Federal de Santa Catarina, pela ajuda na análise dos dados.

Referências Bibliográficas

- ALMENDRAS, J.M.; DUENAS, C.; NACARIO, J.; SHERWOOD, N.M.; CRIM, L.W. 1988 Sustained hormone release. III. Use of gonadotropin releasing hormone analogues to induce multiple spawnings in sea bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 74: 97-111.
- ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; BERDAYES ARRITOLA, J.; DÍAZ BELLIDO, S.J.; LAIZ AVERHOFF, O. 1983 Método de muestreo *in vivo* de ovocitos intraovarios en las lisas *Mugil liza* y *M. curema* (Pisces, Mugilidae) y en el patao *Eugerres brasilianus* (Pisces, Gerreidae). *Revista Latinoamericana de Acuicultura*, 18: 27-38.
- BERLINSKY, D.L.; KING V, W.; SMITH, T.I.J.; HAMILTON II, R.D.; HOLLOWAY, J. JR.; SULLIVAN, C.V. 1996 Induced ovulation of southern flounder *Paralichthys lethostigma* using gonadotropin releasing hormone analogue implants. *J. Wor. Aqua. Soc.*, 27(2): 143-152.
- CERQUEIRA, V.R. 1995 Testes de indução à desova do robalo *Centropomus parallelus*, do litoral da ilha de Santa Catarina com gonadotrofina coriônica humana (HCG). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

- ENGENHARIA DE PESCA, 7, Santos, 1991. *Anais...* Recife, PE. p.95-101.
- FAO/FIDI. 1999 *Aquaculture Production Statistics 1988 – 1997*. Rome: Fisheries Circular n° 815, Revision 11. p.203.
- GARCIA, L.M.B. 1989 Dose-dependent spawning response of mature female sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), to pelleted luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRH-a). *Aquaculture*, 77: 85-96.
- _____ 1990 Advancement of sexual maturation and spawning of sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), using pelleted luteinizing hormone-releasing hormone analogue and 17 α -methyltestosterone. *Aquaculture*, 86: 333-345.
- _____ 1992 Lunar synchronization of spawning in sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch): effect of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) treatment. *J. Fish Biol.*, 40: 359-370.
- GODINHO, H.M.; SERRALHEIRO, P.C. da S.; FERRAZ, E. de M.; PIMENTEL, C.M.M.; OLIVEIRA, I. da R; PAIVA, P. de. 2000 Reprodução induzida do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, 37(1): 37-42.
- GOMES, F.P. 1990 *Curso de estatística experimental*. 13 ed. Piracicaba: ESALQ. 467p.
- HARVEY, B.; NACARIO, J.; CRIM, L.W.; JUARIO, J.V.; MARTE, C.L. 1985 Induced spawning of sea bass, *Lates calcarifer*, and rabbitfish, *Siganus guttatus*, after implantation of pelleted LHRH analogue. *Aquaculture*, 47: 53-59.
- HARVEY, B.J. e CAROLSFELD, J. 1993 *Induced breeding in tropical fish culture*. Ottawa: International Development Research Centre, Canadá. 144p.
- LARSSON, D.G.J.; MYLONAS, C.C.; ZOHAR, Y.; CRIM, L.W. 1997 Gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-A) induces multiple ovulations of high-quality eggs in a cold-water, batch-spawning teleost, the yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 1957-1964.
- LEE, C.S.; TAMARU, C.S.; KELLEY, C.D. 1986 Technique for making chronic-release LHRH-a and 17 α -methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*, 59: 161-168.
- LEVIN, J. 1987 *Estatística aplicada a Ciências Humanas*. Trad. Sérgio Francisco Costa. 2 ed. São Paulo: Harbra. 392 p.
- MIOSO, R. 1995 *Indução à reprodução e incubação de ovos do robalo Centropomus parallelus POEY, 1860 (PISCES, CENTROPOMIDAE)*. Florianópolis, UFSC, 1995. 51p. (Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina).
- SHEHADEH, Z.H.; KUO, C.-H.; MILISEN, K.K. 1973 Validation of an *in vivo* method for monitoring ovarian development in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *J. Fish Biol.*, 5: 489-496.
- SHERWOOD, N.M.; CRIM, L.W.; CAROSFELD, J.; WALTERS, S.M. 1988 Sustained hormone release. I. Characteristics of *in vitro* release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-a) from pellets. *Aquaculture*, 74: 75-86.
- TEIXEIRA, G.C. e CERQUEIRA, V.R. 1997 Desenvolvimento de um sistema de cultivo em circuito fechado para maturação do robalo *Centropomus parallelus*. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7, Florianópolis, 1997. *Resumos...* Florianópolis, UFSC. p.216.
- WATANABE, W.O.; ELLIS, E.P.; ELLIS, S.C.; FELLE, M.W. 1998 Progress in controlled maturation and spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus* broodstock. *J. Wor. Aqua. Soc.*, 29(4): 393-404.
- ZOHAR, Y.; HAREL, M.; HASSIN, S.; TANDLER, A. 1995 Gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). In: BROMAGE, N.R. e ROBERTS, R.L. (Eds.). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. London: Institute of Aquaculture, Blackwell Science. p.94-117.