

INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO NATURAL NA REPRODUÇÃO INDUZIDA DO TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818)

José Antônio Salgado de Moura MUNIZ¹; Maria Teresa Janssem de Almeida CATANHO²;
Athiê Jorge Guerra dos SANTOS¹

RESUMO

Devido a características importantes como sabor, rusticidade, rápido crescimento entre outras qualidades, fazem do tambaqui, *Colossoma macropomum*, um dos peixes mais importantes da piscicultura brasileira. Por ser um peixe reofílico, não desova naturalmente em cativeiro, o que se faz necessária que a sua ovulação seja induzida artificialmente. No presente trabalho investigaram-se os efeitos do fotoperíodo natural na ovulação do referida espécie, quando induzida com o LHRH, decapeptídeo de uso veterinário. Níveis plasmáticos do hormônio 17 α OH-P foram analisados antes e após as injeções hormonais. Utilizaram-se 17 fêmeas e 16 machos em maturação final, os quais foram induzidos com hormônio o LHRH (gonadorrelina) em dois protocolos fotoperiódicos naturais: no protocolo A, indução hormonal iniciou-se entre as 19-20 horas, enquanto no protocolo B a indução hormonal iniciou-se entre às 8-9 horas. Em ambos os grupos, as dosagens hormonais decisivas foram aplicadas entre 12-13 horas após a primeira injeção. As concentrações totais nas fêmeas variaram entre 500-1200 μ gLHRH/peixe. Os machos receberam dosagem única de 50-100 μ gLHRH/peixe. Não houve ocorrência da ovulação no protocolo A, enquanto todas as fêmeas do protocolo B, ovularam. Os níveis do hormônio 17 α OH-P plasmático foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos durante o considerado período de latência do hormônio indutor. Os resultados apontam para a existência de um 'gatilho fotoperiódico' que favorece a ocorrência da ovulação em fêmeas de tambaqui, quando são induzidas com o LHRH (gonadorrelina) de uso veterinário.

Palavras chave: LHRH, fotoperíodo, ovulação

EFFECTS OF THE NATURAL DAYLIGHT IN THE INDUCED REPRODUCTION OF TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818)

ABSTRACT

Tambaqui *Colossoma macropomum* is one of the most important fishes in the Brazilian fish culture, due to its good flavor, rusticity and rapid growth. Since it is an amazonic migrating fish, its ovulation and spawning do not occur in captivity; therefore the induced reproduction in this fish is always needed. The present work investigated the effects of the natural daylight on the ovulation of tambaqui, when was induced with the common LHRH of veterinary use. Plasmatic levels of the hormone 17 α OH-P was measured before and after hormonal injections. Seventeen mature females and sixteen males were used in the investigation. Females were induced to ovulate with the LHRH (gonadorrelin), under two different photoperiodic protocols: In protocol A, the first hormonal injection started in early evening, while in the protocol B it started at early morning time. In each group, the second hormonal injection was done 12-13 after first injection. The total concentration of the LHRH applied in the female fish varied from 500-1200 μ g/fish. All male received a single dose of 50-100 μ gLHRH/fish. No ovulation occurred in the females of the photoperiod A, while all females in the photoperiod B, ovulated. There was statistic difference in the levels of the 17 α OH-P hormone between the two groups, during the considered period of latency of the inducer hormone. The results appoint to an existence of a photoperiodic cue, which can favor the occurrence of the ovulation in tambaqui, when is induced with the common LHRH of veterinary use.

Key words: LHRH, photoperiod, ovulation

Artigo Científico: Recebido em: 11/09/2006; Aprovado em: 06/08/2007

¹ Departamento de Pesca, Av. Dom Manoel de Medeiros S/N, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife, PE

² Departamento de Biofísica, Av. Prof. Moraes Rego, nº 1235, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, PE
E-mail. joanmuniz@bol.com.br

INTRODUÇÃO

O tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) é um dos peixes mais importantes da piscicultura brasileira, em especial nas regiões Norte e Nordeste. É nativo da bacia Amazônica e considerado o segundo maior peixe de escamas do rio Solimões e do Amazonas (GOULDING e CARVALHO, 1982). No ambiente natural, a sua ovulação e desova ocorrem no período das chuvas e tais eventos devem ser regulados por *inputs* fisiológicos, mediados por fatores externos, assim como acontece na maioria dos peixes teleósteos (VENTUERI e BERNARDINO, 1999).

No cativeiro, supressões fisiológicas no processo reprodutivo podem ocorrer, devido às restrições de fatores ambientais (áreas para deslocamento, fotoperíodo e temperatura) suprimindo, de alguma forma, a ação dos hormônios indutores da desova, pois, embora haja o desenvolvimento gonadal, o processo da maturação final (migração do núcleo e quebra da vesícula nuclear) não acontece, por causa dessas restrições (ZOAR e MYLONAS, 2001). Para superar tal problema, hormônios exógenos são comumente aplicados. Os mais utilizados são: extrato bruto de hipófise de carpas (EBHC), o LHRHa (análogo do LHRH, superativo, liberador do hormônio luteinizante, nonapeptídeo) e o LHRH comum (cópia sintética do LHRH natural, decapeptídeo).

Reporta-se que o fotoperíodo e a temperatura regulam as atividades fisiológicas, entre elas, a reprodução. Em peixes teleósteos, a ovulação e a desova tendem a ocorrer em determinadas horas do dia, por causa da influência fotoperiódica (SHERWOOD, 1983). Assim, pode-se considerar essa variável ambiental, como um dos mais importantes no controle da reprodução induzida. Por outro lado, os picos da gonadatropina maturacional plasmática (GtHm) entre espécies de peixes variam de acordo com a hora do dia (ZANUY e CARRILLO, 1987). Sabe-se, também, que o GtH influencia a secreção e liberação dos hormônios esteróides sexuais gonadais, tais como a testosterona, o 17 α hidroxiprogesterona (17 α OH-P) e o 17 α ,20 β -dihidroxiprogesterona (17 α 20 β diOH-P) (YOUNG *et al*, 1986), sendo este último um dos mais importantes hormônios na maturação final dos oócitos (MATSUYAMA *et al*, 1990).

Na maioria das piscigranjas e larviculturas do Brasil, o tambaqui é criado em regime de cativeiro, o que leva a algumas restrições fisiológicas reprodutivas. Daí faz-se necessária a prática da

reprodução induzida por meio liberadores da gonadatropina e/ou de extratos gonadotrópicos exógenos para que ocorra a maturação final. Grande parte das larviculturas brasileiras, porém, utiliza-se de duas metodologias de indução à ovulação no tambaqui: na primeira, a injeção hormonal é normalmente aplicada entre 8-9 horas, enquanto na outra, a primeira injeção hormonal é aplicada entre 19-20 horas. Em ambos os casos, uma segunda injeção hormonal nas fêmeas é administrada entre 12-14 horas, após a primeira injeção. Isso sugere que uma dessas metodologias pode estar indo de encontro ao ciclo hormonal diário normal da espécie, prejudicando assim o processo da ovulação e a qualidade dos gametas. O presente trabalho, portanto, visou estudar a influência do fotoperíodo natural na ovulação do tambaqui *Colossoma macropomum*, quando induzido com o LHRH decapeptídeo (gonadorrelinha) de uso veterinário. Investigou-se, também, a variação plasmática do hormônio 17 α -hidroxiprogesterona.

MATERIAL E MÉTODOS

A investigação foi realizada na Estação de Aqüicultura Continental Prof. Johei Koike, do Departamento de Pesca e Aqüicultura/UFRPE, no período de setembro de 2004 a janeiro de 2005.

Um total de 17 fêmeas e 16 machos em maturação final de tambaqui, *Colossoma macropomum*, foram utilizados no presente trabalho. Os peixes foram selecionados, no viveiro estoque (50 x 20 x 1,5 m²), de acordo com suas características morfológicas externas; para as fêmeas, ventre distendido e flácido e papila genital avermelhada e dilatada.

Nos machos observou-se a existência do sêmen sob uma ligeira pressão abdominal (YARON, 1995). Os tambaquis foram alimentados duas vezes ao dia (3% da biomassa total) com ração extrusada, contendo 28% de proteína bruta. A idade dos peixes variam entre 3-4 e 4-5 anos para machos e fêmeas, respectivamente.

Os peixes selecionados foram utilizados em seis testes de indução à reprodução, conforme os protocolos A e B:

Protocolo A: 10 fêmeas e 10 machos. Oito fêmeas foram induzidas à ovulação com o LHRH (gonadorrelinha). A concentração total do hormônio para as fêmeas variou entre 700-1150 μ gLHRH/peixe, divididas em duas aplicações num intervalo entre 12-13 horas, exceto para as duas fêmeas

controle, que receberam apenas soro fisiológico. O peso das fêmeas variou entre 9,5-14,0 kg (Tabela 1). As concentrações hormonais na primeira e segunda injeção variaram de acordo com a evolução gonadal de cada fêmea. Nesse protocolo, a primeira injeção hormonal foi aplicada entre as 19-20 horas (Figura 1). Cada macho recebeu dosagem hormonal única, variando entre 50-100 $\mu\text{gLHRH/peixe}$, de acordo com o estágio gonadal (*i.e* grau de fluidez de esperma sob ligeira pressão abdominal), no momento da segunda aplicação hormonal das fêmeas.

Protocolo B: 7 fêmeas e 6 machos. Cinco fêmeas foram induzidas à ovulação com o mesmo hormônio; as dosagens totais variaram entre 500-1200 $\mu\text{gLHRH/}$

peixe, divididas em duas aplicações entre de 12-14 horas, ou em dose única, exceto as duas fêmeas controle que receberam apenas soro fisiológico (Tabela 2). O peso das fêmeas variou entre 10,6-15,5 kg. Diferentes do protocolo A, as primeiras injeções hormonais nesses últimos testes começaram entre 08-09 horas (Figura 1). Os machos também receberam dosagens única, variando entre 50-100 $\mu\text{gLHRH/peixe}$, de acordo com o seu estágio gonadal

As concentrações totais do LHRH (gonadorrelina), empregadas nas fêmeas e machos de ambos os protocolos fotoperiódicos, são consideradas eficazes à indução da ovulação e espermeação do tambaqui. (PEREZ, 2003 ; SANTOS *et al*, 1991).

Tabela 1. Dados de fêmeas obtido durante a ação do protocolo fotoperiódico A: peso (kg); dosagens hormonais e ocorrência de ovulação.

Protocolo fotoperiódico A						
Testes	Fêmeas	Peso (kg)	Dosagem total ($\mu\text{gLHRH/peixe}$)	($\mu\text{gLHRH/peixe}$) 1 ^o dose	($\mu\text{gLHRH/peixe}$) 2 ^o dose	Ovulação
A	1	12,5	700 (56)* 700 (43)	250	450	-
	2	16,3		250	450	-
B	1	12,7	750 (59)	250	500	-
	2	9,5	750 (79)	250	500	-
C	1	10,8	1150 (106)	450	700	-
	2	11,5	1050 (91)	400	650	-
D	1	12,5	950 (76)	350	600	-
	2	13,5	850 (63)	350	500	-
	Controle	14,0	---	---	---	-
	Controle	15,5	---	---	---	-

**O número em parênteses significa $\mu\text{gLHRH/kg}$.

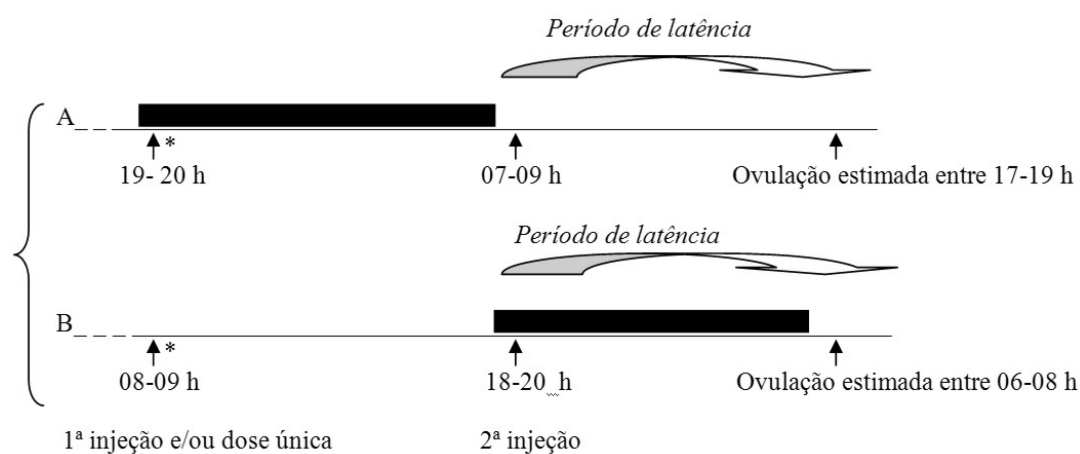


Figura 1. Calendário das injeções hormonais nos tambaquis e estimativas dos momentos de ovulação nos protocolos A (início da indução hormonal entre 19-20h) e B (início da indução hormonal entre 08-09h). (*) significa momento do acasalamento

Tabela 2. Dados de fêmeas obtido durante a ação do protocolo fotoperiódico B: peso (kg); dosagens hormonais e ocorrência de ovulação.

Protocolo fotoperiódico B						
Testes	Fêmeas	Peso (kg)	Dosagem total ($\mu\text{gLHRH/peixe}$)	($\mu\text{gLHRH/peixe}$) 1° dose	($\mu\text{gLHRH/peixe}$) 2° dose	Ovulação
E	1**	14,7	500 - (34)*	500	---	-
	2**	12,5	500 - (40)	---	500	+
	3	10,6	850 - (80)	320	330	+
F	1	12,7	1000 - (80)	400	600	+
	2	15,0	1200 - (80)	450	750	+
	Controle	13,0	---	---	---	-
	Controle	15,5	---	---	---	-

* Número em parênteses significa $\mu\text{gLHRH/kg}$.

** Dosagem única.

Grupos de fêmeas, pertencentes aos protocolos A e B, foram selecionadas para coleta de sangue e análise do 17α -hidroxiprogesterona e obedeceu o seguinte calendário amostral: 'tempo 0' (amostras coletadas antes da primeira dosagem hormonal), tempo 12' (amostras coletadas 12 horas após a primeira indução) e 'tempo 24' (amostras coletadas 24 horas após a primeira injeção)

Na coleta foram utilizadas seringas heparinizadas e agulhas (20G) de tamanho. Do pedúnculo caudal foram retirados 1mL de sangue, que logo em seguida foi centrifugado a 3.000 rpm por quinze minutos. Após a centrifugação, foram congelados o plasma sanguíneo à -15°C , até a análise hormonal.

Os níveis do hormônio 17α -hidroxiprogesterona (17α OH-P) plasmático foram determinados por meio do método de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, com hormônio marcados com ^{125}I , utilizando-se kits comerciais Coat-A-Count, da *Diagnostic Products Corporation* (DPC).

Os dados obtidos foram analisados através dos métodos estatísticos descritivos e analíticos. Nas análises comparativas utilizou-se o Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pesos dos peixes, as dosagens hormonais utilizadas e os efeitos do LHRH (gonadorrelina) sobre a ovulação do tambaqui nos protocolos A e B, estão indicados nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Conforme mostram os resultados, nenhuma ocorrência de ovulação foi observada nas fêmeas do protocolo A, enquanto todas as fêmeas induzidas do

protocolo B, ovularam.

Quanto à variação plasmática do 17α -hidroxiprogesterona nas fêmeas pertencentes ao protocolo A, o valor médio antes da primeira indução do LHRH que foi de 0,05 ng/mL do plasma, aumentou para 45,57 ng/mL após 12 horas e diminuiu para 20,75 ng/mL após 24 horas, dentro do considerado período de latência do hormônio indutor (Tabela 3).

No protocolo B, porém, o valor médio inicial foi de 0,31 ng/mL do plasma, aumentou para 38,66 ng/mL após 12 horas e continuou aumentando até o nível médio de 56,84 ng/mL, após 24 horas (Tabela 4). Houve diferença significativa entre os níveis hormonais antes e depois da primeira injeção hormonal nos protocolos A e B, assim como entre as fêmeas de ambos os protocolos, no tempo 24.

No sistema reprodutivo de peixes teleósteos, a hormônio liberador da gonadotropina estimula a liberação do GTH armazenado na hipófise, que por sua vez induz a síntese e a liberação dos esteróides sexuais, dentre esses a testosterona, o 17α -hidroxiprogesterona (17α -OH-p), sintetizado nas células espaciais da teca do folículo ovariano. Esse hormônio é transformado no 17α , 20β -dihidroxiprogesterona (17α , 20β diOH-p) nas granulosa sob a ação da enzima 20β -dihidroxiesteroideshidrogenase. Esse último hormônio constituiu-se em um dos MIS (*maturational induced steroids*) mais importantes no processo da ovulação em peixes teleósteos, pois também é co-responsável pela ocorrência de fase 'GVBD' (quebra da vesícula germinativa), que logo precede ação ovulatória.

Tabela 3. Variação da progesterona (17α OH-P em ng/mL) de fêmeas pertencentes ao protocolo A, nos tempos 0, 12 e 24 horas após a primeira indução do LHRH.

Peixe	0 hs	12 hs	24 hs
♀	0,08	33,69	25,49
♀	0,06	55,11	23,61
♀	0,05	51,06	21,19
♀	0,03	45,57	12,72
Média	0,05 ^a	45,57 ^b	20,75 ^c
Dp	0,02	8,06	4,88

Obs. Nos dois peixes controles, não foi possível analisar a quantidade do hormônio ao longo do experimento, exceto no 'tempo 0', que foram 0,07^a e 0,05^a ng/mL. As letras mostram se existem diferenças estatísticas ($\alpha = 0,05$).

Tabela 4. Variação da progesterona (17α OH-P em ng/mL) de fêmeas pertencentes ao protocolo B, nos tempos 0, 12 e 24 horas após a primeira indução do LHRH.

Peixe	0	13	24
♀	0,71	30,01	62,02
♀	0,09	42,41	51,65
♀	0,12	43,56	-----
Média	0,31 ^a	38,66 ^b	56,84 ^c
dp	0,28	6,13	5,18

Do experimento, exceto no 'tempo 0', que foram 0,05^a e 0,07^a ng/mL. As letras mostram se existem diferenças estatísticas ($\alpha = 0,05$).

As Figuras 2 e 3 mostram a variação do hormônio 17α -hidroxiprogesterona plasmático nas fêmeas pertencentes aos protocolos A e B, linhas de tendência e os coeficientes de determinação (r^2). Diferente do protocolo A, a variação do hormônio nas fêmeas do protocolo B foi sempre ascendente, o que provavelmente favoreceu o desencadeamento do processo ovulatório, após a inversão do fotoperíodo no momento da primeira injeção hormonal. Os resultados apontam para a existência de um "gatilho fotoperiódico" quando a ovulação o tambaqui é induzida com o decapeptídeo LHRH (gonadorrelina).

Nenhuma ovulação, portanto, foi observada nas fêmeas do protocolo fotoperiódico A. Como os testes nesse protocolo foram realizados logo no início do considerado período normal de desova do tambaqui na região, presume-se que, além do fotoperíodo, outros fatores, tais como, níveis basais de esteróides

sexuais antes da primeira indução hormonal tenham contribuído para esse resultado. Nota-se que no tempo '0', os níveis do 17α OH-progesterona nas fêmeas do protocolo fotoperiódico A estavam mais baixos do que aqueles das fêmeas pertencentes ao protocolo B, no qual ocorreu a ovulação (Tabelas 3 e 4). Em carpa comum, *Cyprinus carpio*, existe um gatilho fotoperiódico que determina o momento da ovulação (Santos *et al*, 1986) e assim como acontece em outros peixes teleosteos, a elevação dos níveis de GTH durante a ovulação parecer ser dependente dos níveis plasmáticos dos esteróides sexuais (Ainda *et al*, 1986). No tambaqui, pesquisas mais ampla são necessárias a fim de elucidar se a influência fotoperiódica está condicionada aos níveis plasmáticos de esteróides sexuais ou outro de fatores fisiológicos.

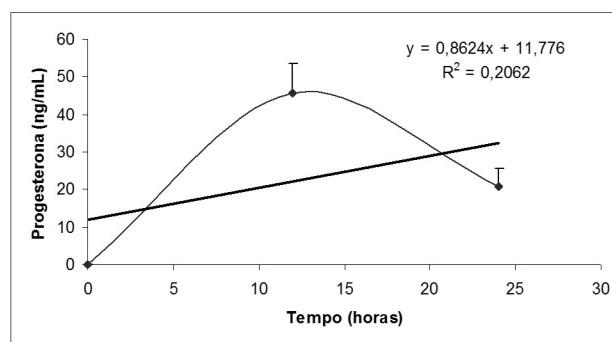


Figura 2. Valores médios do 17α OH-progesterona plasmático nas fêmeas de tambaqui do protocolo A, antes e após a indução à ovulação com o LHRH (gonadorrelina).

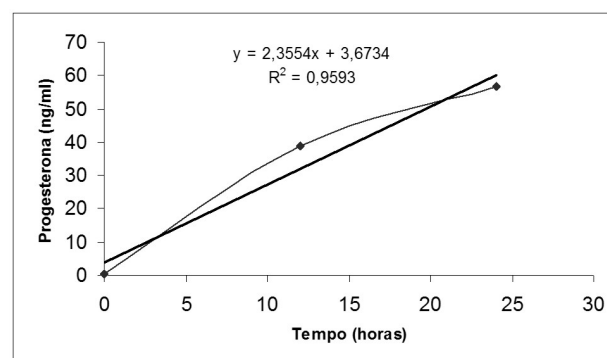


Figura 3. Valores médios do 17α OH-progesterona plasmático nas fêmeas de tambaqui do protocolo B, antes e após a indução à ovulação com o LHRH (gonadorrelina).

Variações de sGnRH (hormônio liberador da gonadotropina de salmão) foram temporariamente correlacionados com os níveis de GTH I (gonadotropina vitelogênica) e GTH II (gonadotropina maturacional)

da pituitária e plasmática, seguidas por alterações fotoperiódicas da maturação gonadal (AMANO, 1994 e DAVIES *et al.*, 1999). Estudos apontam para a influência da melatonina no processo da maturação gonadal de peixes teleósteos (BROMAGE, 2001). Similar às aves, a melatonina plasmática de peixes apresenta uma variação circadiana, pois é alta durante o dia e baixa durante a noite. Embora os recentes estudos apontem para uma influência da melatonina na maturação gonadal de peixes, a importante pergunta que ainda permanece é como os sistemas endógenos circadianos e circannual interagem com a função reprodutiva dos peixes, inclusive o tambaqui.

Vários relógios-biológicos genéticos têm sido identificados em muitos mamíferos. Contudo, o envolvimento desses genes no controle da função circadiana e circannual da melatonina ainda não é conhecido (BRIERLEY, *et al.* 1999 *apud* BROMAGE 2001).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos apontam para uma influência fotoperiódica no processo ovulatório do tambaqui, *Colossoma macropomum* quando induzido com o LHRH (gonadorrelina) e que o grau dessa influência pode estar condicionado a níveis plasmáticos de esteróides sexuais no início da indução hormonal.

AGRADECIMENTOS

À Estação de Aqüicultura Continental, do Departamento de Pesca e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio à realização do presente experimento e ao Departamento de Biofísica da Universidade Federal de Pernambuco, pelas análises hormonais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDA, K.; KOBAYASHI, M.; SHIMIZU, A.; SANTOS, A.J.G.; FURUKAWA, K.; AND HANYU, I. 1986. Gonadotropin secretion during the ovulation process in cyprinid fishes. In: *Par Distalis of the Pituitary Gland – Structure, Function and Regulation*. Elsevier Science Publishers B.V. p. 481-485.
- AMANO, M.; OKUMOTO, N.; KITAMURA, S.; IKUTA, K.; SUZUKI Y.; AIDA, K. 1994 Salmon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin are involved in precocious maturation induced by photoperiod manipulation in underyearling male masu salmon, *Oncorhynchus masu*. *General Comparative Endocrinology*, 95(3) : 368-37.
- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. 2001. The environmental regulation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 197(1-4) : 63-98.
- DAVIES, B. ; BROMAGE, N. ; SWANSON, P. 1999. The brain-pituitary-gonadal axis of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Effects of photoperiod manipulation. *General Comparative Endocrinology*, 115(1) : 155-166.
- GOULDING, M. and CARVALHO, M.L. 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, characidae): An important Amazonian foodfish. *Revista Brasileira de Zoologia*, Viçosa,1(1) : 107-138.
- MATSUYAMA, M.; YOSHIHIDE, H.; MATSUURA, S. 1990. Effects of steroids on germinal vesicle breakdown in vitro of intact follicles in the japonese whiting, *Sillago japonica*, a marine teleost. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Elmsford, v. 96(2) : 257- 261.
- PEREZ, C.J.B. 2003. Novas metodologias de ovulação induzida no tambaqui, *Colossoma macropomum*, com o LHRH comum (gonadorrelina) Rel. Tecn. Est. Aqüicultura/UFRPE,Recife, 8p.
- SANTOS, A.J.G.; CARMO, J.L.; WALSLEY, S.M. 1991. Efeitos do LHRH na ovulação induzida do tambaqui *Colossoma macropomum* e do curimatá pacu *Prochilodus marginivittatus*. *Anais XII Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca*. Santos, São Paulo, p.103-110.
- SANTOS, A.J.G.; FURUKAWA, K.; BANDO, K.; AIDA, K.; HANYU, I. 1986 Photoperiodic determination of preovulatory gonadotropin surge onset time in the carp *Cyprinus carpio*. *Bull. Japan.Soc.Sci.Fish.*, 52(7):1167-1172.
- SHERWOOD, N.; EIDEN, L.; BROWNSTEIN, M.; SPIESS, J.; RIVIER, J.; VALE, W. 1983. Characterization of a teleost gonadotropin releasing hormone. *Proceedings Natural Academy Science*, 80(9) : 2794-2748.
- VENTUERI, R. e BERNARDINO, G. 1999. Hormônios na reprodução artificial de peixes. *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, n.55(9) : p. 39-49.

- YARON, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, n. 129(1-4) : 49-73.
- YOUNG, G.; ADASHI, S.; NAGAHAMA, Y. 1986. Role of ovarian thecal and granulose layers in gonadotropin-induced synthesis of a salmonid maturation-inducing substance ($17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one). **Developmental Biology**, San Diego, v. 118(1) : 1-8.
- ZANUY, S. and CARRILLO, M. 1987 La reproducción de los teleosteos y su aplicación en acuicultura. In: MONTEROS, J.E. ; LABARTA, U. (Ed). **Reproducción en Acuicultura**. Madrid, Industrias gráficas España, p. 1- 132.
- ZOAR, Y. and MYLONAS, C.C. 2001 Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. In: WORKSHOP HOSTED, 1999, Amsterdam. **Proceedings...**Amsterdam: Elsevier, p. 99-136.