

Reprodução induzida em robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860*

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Heloisa Maria Godinho
Instituto de Pesca – CPA/SSA
Av. Francisco Matarazzo, 455
05001-900 – São Paulo – SP
e-mail: ipesca@eu.ansp.br

1-Instituto de Pesca - CPA/SAA-SP

Induced spawning of snook *Centropomus parallelus* Poey, 1860

Heloisa Maria GODINHO¹; Pedro Carlos da Silva SERRALHEIRO¹; Eduardo de Medeiros FERRAZ¹;
Celina Maria Marcondes PIMENTEL¹; Idili da Rocha OLIVEIRA¹; Patricia de PAIVA¹

RESUMO

A espécie *Centropomus parallelus*, conhecida como robalo nas regiões Sudeste e Sul e como camorim no Nordeste e Norte, foi submetida à reprodução induzida com hCG (human chorionic gonadotropin), no Laboratório de Maricultura do Instituto de Pesca, em Cananéia, SP (25° 01' S; 47° 57' W). Em novembro e dezembro de 1996 e janeiro de 1997, fêmeas dessa espécie pesando entre 210 g e 1.740 g e medindo entre 25,7 cm e 56,0 cm foram selecionadas levando-se em consideração o valor médio do diâmetro dos ovócitos, o padrão de distribuição porcentual dos valores do diâmetro e a localização da vesícula germinativa na célula. Foram utilizadas doses únicas de 1, 2 ou 5 UI de hCG por grama de peso corporal em vinte e seis fêmeas que apresentaram ovócitos com diâmetro médio ao redor de 400 µm e distribuição de frequência porcentual de valores dos diâmetros unimodal, com moda em 435,6 µm. Como controle, foram utilizadas quatro fêmeas, que receberam 1 ml de solução salina a 0,9%. Aproximadamente 35 horas após a aplicação do hormônio, as fêmeas iniciaram a liberação dos óvulos. Neste momento, os óvulos apresentaram o diâmetro médio superior a 600 µm, uma única gota de óleo e vesícula germinativa quebrada. Foi feita extrusão dos óvulos para fertilização a seco. Os machos não foram submetidos a tratamento hormonal, sendo selecionados pela quantidade e viscosidade do sêmen e motilidade dos espermatozoides. A taxa de fertilização variou de 70 a 90%. A eclosão das larvas ocorreu 18 horas após a fertilização. Durante a incubação dos ovos e eclosão das larvas, a temperatura da água foi de 25 ± 1°C e a salinidade variou de 29 a 35‰.

UNITERMOS: Robalo; *Centropomus parallelus*; Reprodução; Oócitos.

INTRODUÇÃO

Programas de repovoamento e de piscicultura utilizando peixes estuarinos vêm sendo desenvolvidos em todo o mundo, sendo necessário, portanto, incentivar a produção de alevinos de boa qualidade. Neste sentido, estão sendo realizados, no país, trabalhos de reprodução induzida em várias espécies, com o uso de diferentes agentes indutores e doses hormonais^{1,4,11,20}.

Os robalos (gênero *Centropomus*) têm ampla distribuição geográfica e ocorrem em toda a costa brasileira. Como peixes bastante apreciados pela qualidade da carne, alcançam alto preço no mercado. São conhecidos como camorim no Norte e Nordeste e como robalo no Sudeste e Sul do país^{9,24}. Eurialinos e rústicos, os robalos apresentam adaptação fácil a diferentes habitats. Segundo Cerqueira⁴; Cerqueira *et al.*⁵ e Borba *et al.*², *Centropomus parallelus* é espécie com grande potencial para a piscicultura.

Estudos sobre alguns aspectos biológicos da espécie para subsidiar trabalhos de piscicultura foram realizados por Souza²⁵; Godinho *et al.*¹²; Serralheiro *et al.*²³ e Godinho *et al.*^{13,14}.

Com a diminuição dos estoques de *C. parallelus*, causada pela sobrepesca e pela destruição dos ambientes de reprodução, desenvolve-se nos Estados Unidos amplo programa de repovoamento e criação da espécie^{6,10,26}.

Neste trabalho, tem-se como objetivo a indicação de critérios para escolha de fêmeas reprodutoras e do momento exato de aplicação do hormônio indutor da ovulação, bem como a determinação das doses eficazes de hCG na indução da desova, para obtenção da reprodução de *C. parallelus* em laboratório.

MATERIAL E MÉTODO

Nos meses de novembro e dezembro/1996 e janeiro/1997, na região estuarino-lagunar de Cananéia (Fig. 1), foram

* Trabalho financiado pela FAPESP.

capturados, com anzóis e em cercos fixos, exemplares do robalo *Centropomus parallelus* para serem utilizados nos trabalhos de reprodução induzida.

Os peixes foram aclimatados em tanques de fibra de 1 m³, com água corrente à temperatura oscilando entre 23 e 27°C e salinidade entre 19 e 24‰.

Para a escolha das fêmeas, utilizou-se como critério papila urogenital levemente avermelhada, ventre ligeiramente abaulado, exame de ovócitos intra-ovários e verificação do estado físico. Para o exame dos ovócitos, retirou-se uma amostra por meio da introdução de um cateter plástico (sonda uretral) através da papila. Dos ovócitos assim retirados, parte foi colocada em solução de Gilson para medição do diâmetro em estereomicroscópio e posterior cálculo do valor médio e obtenção da distribuição de frequência porcentual dos diâmetros. Outra parte, colocada em líquido de Serra, foi utilizada para verificação da posição do núcleo (vesícula germinativa), também analisada sob estereomicroscópio com ocular 10x e objetiva 50x.

Os machos foram selecionados pela análise qualitativa e quantitativa do sêmen, expelido sob leve pressão do abdômen²², e não receberam nenhum tratamento hormonal.

Selecionaram-se para indução hormonal trinta fêmeas que apresentavam diâmetro médio dos ovócitos ao redor de 400 µm, segundo indicação de Cerqueira⁴.

Como agente indutor da desova, utilizou-se hCG (human chorionic gonadotropin) em dose única de 1; 2 ou 5 unidades internacionais (UI) por grama de peso corporal, diluída em 1 ml de solução salina a 0,9% e aplicadas intramuscularmente na região dorsal do peixe. Quatro fêmeas foram utilizadas como controle, tendo recebido 1 ml de solução salina a 0,9%.

No momento da desova, obtida através de extrusão, uma parcela dos óvulos foi colocada em solução de Gilson para medição do diâmetro, e outra, em líquido de Serra para verificação da posição do núcleo³.

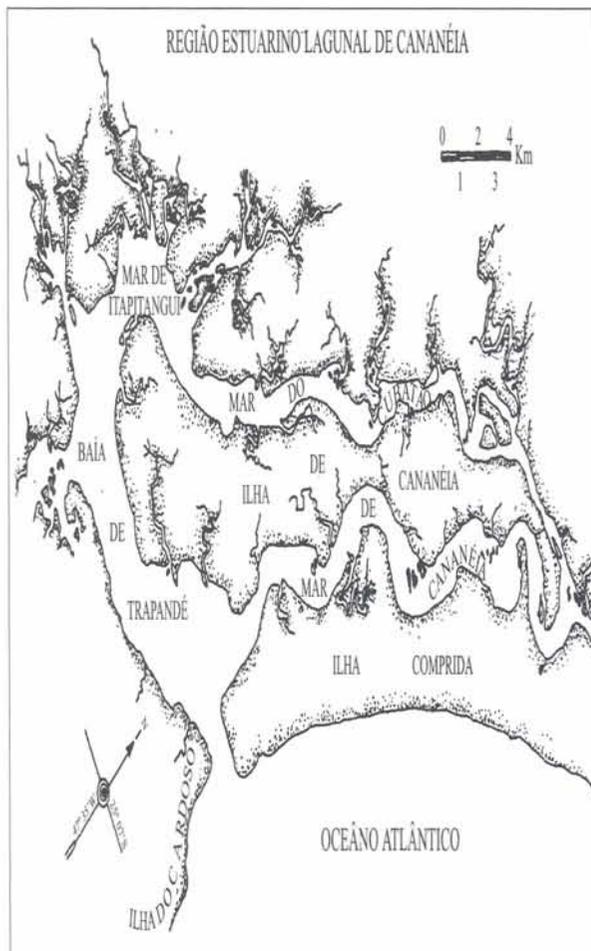
Para fertilização, feita a seco, utilizou-se sêmen fresco que apresentou, em análise prévia sob microscopia de fase, espermatozoides perfeitos e 90% de motilidade. Os ovos foram colocados em incubadoras cilíndricas, confeccionadas com tela de náilon de 60 µm de abertura de malha, colocadas suspensas em caixas de fibra de 1 m³ contendo água do mar com aeração constante e filtrada através de filtro biológico. O cálculo da taxa de fertilização foi feito de acordo com Godinho *et al.*¹¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os peixes utilizados neste trabalho possuíam comprimento entre 25,7 e 56,0 centímetros e peso entre 210 e 1.740 gramas. As 30 fêmeas selecionadas apresentaram distribuição de frequência porcentual dos diâmetros como mostra a Fig. 2A. Destas fêmeas, 26 foram injetadas com hCG

Tabela 1

Dados biométricos e respostas à reprodução induzida apresentadas por fêmeas de *Centropomus parallelus* injetadas com hCG; em Cananéia, no período de nov./1996 a jan./1997- ovulação (+); ovulação e fertilização (++); ausência de ovulação (-)



e quatro (controle), com solução salina. Os dados biométricos e as respostas à indução são apresentados na Tab. 1. Aproximadamente 35 horas após a injeção hormonal, dezenove fêmeas iniciaram a liberação dos óvulos e, neste momento, o valor médio do diâmetro dos ovócitos e o padrão de distribuição dos valores do diâmetro sofreram alterações (Tab. 1 e Fig. 2B). O momento ideal para a indução hormonal foi aquele em que a distribuição de frequência dos diâmetros dos ovócitos mostrou-se unimodal, com diâmetro médio bem próximo de 400 µm. Nas fêmeas que responderam positivamente à aplicação do hormônio, o diâmetro médio no momento da ovulação foi superior a 600 µm.

Observações semelhantes sobre o padrão de distribuição do diâmetro de ovócitos, definindo o tamanho ideal do óvulo para indução da reprodução, também foram



Figura 1

Mapa da região estuarino-lagunar de Cananéia, área de coleta dos exemplares de *Centropomus parallelus*.

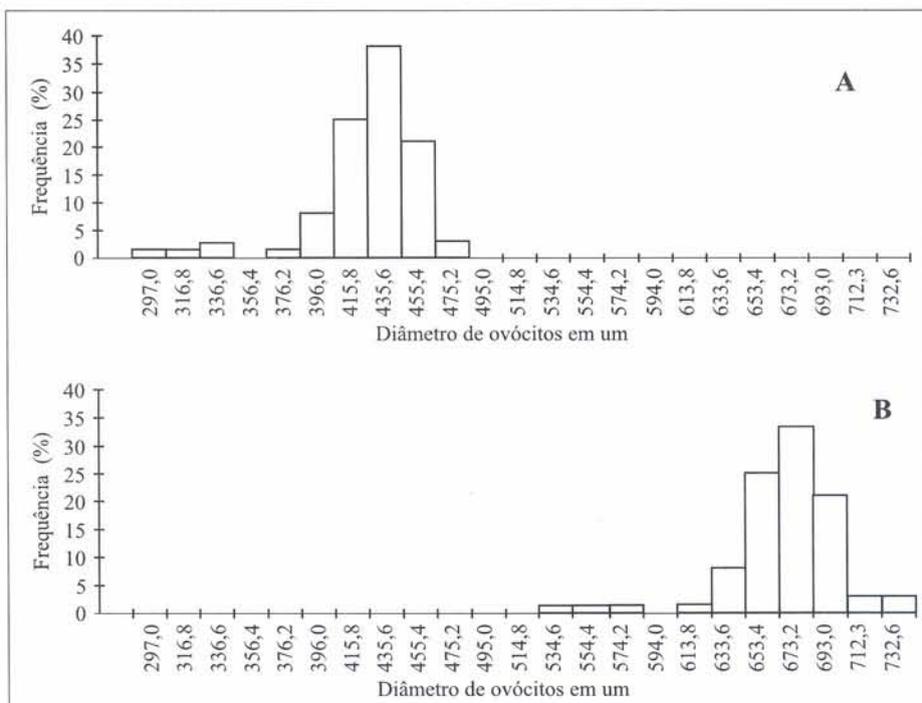


Figura 2

Distribuição da frequência do diâmetro de ovócitos de *Centropomus parallelus* antes da administração de hormônio hCG (A) e no momento da extrusão (B).

feitas por Fenerich-Verani *et al.*⁸, em curimatá, *Prochilodus scrofa*, e por Romagosa *et al.*²¹, em pacu, *Piaractus mesopotamicus*. West²⁸, Mayer *et al.*¹⁹ e Kelley *et al.*¹⁶ também utilizaram o padrão de distribuição do diâmetro dos ovócitos como indicador da fase de desenvolvimento ovocitário. Verani *et al.*²⁷ utilizaram como critério para selecionar fêmeas adequadas para serem submetidas a reprodução induzida um índice que denominaram fator de condição relativo (Kn).

Os principais problemas relacionados com a prática da reprodução induzida em peixes são a determinação das doses hormonais eficazes e o momento de sua aplicação.

Neste trabalho, observou-se que as doses de 1, 2 e 5 Unidades Internacionais de hCG/g foram eficazes na indução da desova. No entanto, Cerqueira¹ e Mioso *et al.*²⁰ utilizaram, em testes, 1.500 UI em fêmeas e 500 e 1.500 UI em machos, sendo essas doses utilizadas independentemente do peso dos peixes. As doses utilizadas para *Centropomus parallelus* foram bastante pequenas quando comparadas àquelas de 20 e 40 UI/g que Donaldson; Hünter⁷ e Lee *et al.*¹⁸ aplicaram em tainha *Mugil cephalus* e Godinho *et al.*¹¹ em *Mugil platanus*, e com aquelas de 10 e 20 UI/g que Romagosa *et al.*²¹ utilizaram em *Piaractus mesopotamicus*.

Segundo Lam¹⁷, a vesícula germinativa (núcleo), no início da maturação, ocupa posição central, deslocando-se para a periferia da célula (ovócito) no estágio final da maturação, quando então a membrana se rompe e o núcleo passa a não ser visível, estando o óvulo pronto para ser fertilizado.

O núcleo em posição central e presença de muitas gotas de óleo no citoplasma, observados nos ovócitos intra-ovários da primeira amostra, assim como o deslocamento do núcleo para a periferia e a presença de uma única gota de óleo, verificados após a administração de hormônio, foram observados nesta espécie e também em *Mugil cephalus*¹⁵ e *Mugil platanus*¹¹. Pôde-se constatar a não-evolução do diâmetro dos ovócitos nas fêmeas utilizadas como controle, mostrando,

portanto, que há necessidade de indução hormonal para que haja maturação final e ovulação.

A eclosão das larvas ocorreu, nas incubadoras, em média 18 horas após a fertilização e à temperatura de 25 ± 1°C e salinidade de 29 a 35‰.

As fêmeas que melhor responderam aos tratamentos, isto é, produziram óvulos com taxa de fertilização de 70 a 90%, foram aquelas cujo valor do diâmetro médio dos ovócitos foi superior a 600 µm, 35 horas após a aplicação do hormônio, podendo-se sugerir que o tamanho do óvulo seja responsável pelo sucesso do processo de fertilização.

CONCLUSÕES

Com a metodologia aplicada neste trabalho, pôde-se concluir que:

- a aplicação de hCG nas doses de 1, 2 ou 5 UI/g de peso corporal foi eficaz na indução da desova, podendo ser utilizada a dose menor para diminuir o custo;
- os critérios usados na seleção das fêmeas reprodutoras foram adequados;
- o momento exato para aplicação do hormônio é aquele em que os óvulos apresentam diâmetro médio ao redor de 400 µm;
- fêmeas que apresentam, no momento da desova, diâmetro médio dos ovócitos acima de 600 µm, são aquelas que produzem óvulos com taxa de fertilização de 70 a 90%.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os funcionários da Base de Pesquisa de Cananéia, pelo apoio logístico, ao Pesquisador Científico Glaucio Gonçalves Tiago, pela confecção do gráfico, e a Márcia Navarro Cipólli, pela revisão do texto.

SUMMARY

The snook *Centropomus parallelus*, an important fish of the Brazilian coast, was induced to spawn with the aid of hCG (human chorionic gonadotropin) in November and December/1996 and January/1997, at the Laboratory of Mariculture of Cananéia - SP, Brazil (25° 01' S; 47° 57' W). The females (n = 26) received one dose of hormone containing 1, 2 or 5 IU of hCG per gram of body weight. These females were chosen observing initial mean oocyte diameter, the distribution of the different diameter values, and location of germinal vesicle. Four females were considered as control and received one unique injection of 1 ml of 0.9% saline solution. The initial mean oocyte diameter of the selected females was around 400 µm and the distribution of oocyte diameters was unimodal with the mode in 435.6 µm. Approximately 35 hours after the injection of the hormone, females initiated the release of eggs. Then, the eggs were extruded and dry fertilization performed with sperm. At this time, the mean egg diameter was above 600 µm, one oil droplet was present and the germinal vesicles were breakdown. Many larvae were obtained with either one of the above different hormonal doses, 18 hours after fertilization. The ratio of fertilization ranged between 70 and 90%. During the incubations, the sea water salinity was maintained between 29 and 35‰, and the temperature was 25 ± 1°C. Males did not receive hormone. They were selected taking into account the amount and viscosity of milt released and with spermatozoa motility around 90%. The body weight of the fishes varied from 210 g to 1,740 g and the length, from 25.7 to 56.0 centimeters.

UNITERMS: Snook; *Centropomus parallelus*; Reproduction; Oocytes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ANDREATTA, E.R.; RODRIGUES, Y.B.R.; SILVA, I.D.; BELTRAME, E. Reprodução artificial da tainha *Mugil liza* Valenciennes, 1836. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 3., Manaus, 1983. **Anais**, 1983. p.153-62.
- 2- BORBA, M.R.; SEIFFER, M.E.B.; CERQUEIRA, V.R. Utilización de cuatro dietas en la adaptación de las larvas de robalo *Centropomus parallelus* al alimento inerte. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE ACUICULTURA, 9., Coquimbo, Chile, 1996. **Comunicaciones Cortas**. Coquimbo: Universidad Católica del Norte, 1996. p.272-5.
- 3- BRUZSKA, E. The *in vivo* method of estimating the stages of maturation in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Acta Hydrobiologica**, v.21, p.423-33, 1979.
- 4- CERQUEIRA, V.R. Testes de indução de 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. **Resumos**. Santos, 1991. p.57.
- 5- CERQUEIRA, V.R.; MACCHIAVELLO, J.A.G.; BRUGGER, A.M. Produção de alevinos de robalo, *Centropomus parallelus* - Poey, 1860, através de larvicultura intensiva em laboratório. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7.; ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 2., Peruíbe, 1992. **Anais**. Peruíbe: Associação Brasileira de Aqüicultura, 1995. p.191-6.
- 6- CHAPMAN, P.; CROSS, F.; FISH, W.; JONES, K. **Final report for sportfish introduction project**. Study I: Artificial culture of snook. Florida: Game and Fresh Water Fish Commission, 1982. 35p. (mimeo report)
- 7- DONALDSON, E.M.; HÜNTER, G.A. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; DONALDSON, E.M. **Fish physiology**. New York: Academic Press, 1983. V.9. Part B. p.351-403.
- 8- FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H.M.; NARAHARA, M.Y. The size composition of the eggs of curimatã, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881, induced to spawn with human chorionic gonadotropin (hCG). **Aquaculture**, v.42, p.37-41, 1984.
- 9- FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil III. Teleostei (2)**. São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 1980. p.1-90.
- 10- GILMORE, R.G.; DONOHUE, C.J.; COOKE, D.W. Observations on the distribution and biology of East-Central Florida populations of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). **Florida Scientist**, v.46, n.3/4, p.313-36, 1983.
- 11- GODINHO, H.M.; KAVAMOTO, E.T.; ANDRADE-TALMELLI, E.F.; SERRALHEIRO, P.C. da S.; PAIVA, P.; FERRAZ, E.M. Induced spawning of the mullet *Mugil platanus* Günther, 1880, in Cananéia, São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.20, n.único, p.59-66, 1993.
- 12- GODINHO, H.M.; PIMENTEL, C.M.M.; FERRAZ, E.; TIAGO, G.G.; NARAHARA, M.Y.; PAIVA, P.; OLIVEIRA, I.R.; SERRALHEIRO, P.C.S.; CASTRO, J.I.C.M. Biología del robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860 de la región estuarino-lagunar de Cananéia, SP - Brasil (Lat 25° 00' S; Long. 47° 55' W). In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE ACUICULTURA, 9., Coquimbo, Chile, 1996. **Comunicaciones cortas**. Coquimbo: Universidad Católica del Norte, 1996. p.280-3.
- 13- GODINHO, H.M.; PIMENTEL, C.M.M.; FERRAZ, E.M.; OLIVEIRA, I.R.; PAIVA, P.; SERRALHEIRO, P.C.S.; TIAGO, G.G. Relações morfofisiológicas do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860 durante dois ciclos reprodutivos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO SOBRE CIÊNCIAS DO MAR, 7., Santos, 1997. **Anais**. Santos: Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo e Associação Latino-Americana de Investigadores em Ciências do Mar, 1997. V.1. p.370-1.
- 14- GODINHO, H.M.; PIMENTEL, C.M.M.; FERRAZ, E.; TIAGO, G.G.; OLIVEIRA, I.R.; CASTRO, J.I.C.M.; NARAHARA, M.Y.; PAIVA, P.; SERRALHEIRO, P.C. da S. Reproductive biology of the snook *Centropomus parallelus* from the lagoon-estuarine region of Cananéia (25° 00' S; 47° 55' W), São Paulo - Brasil. In: WORLD AQUACULTURE '97., Seattle, 1997. **Book of abstracts**. Seattle: World Aquaculture Society, 1997. p.178.
- 15- GREELEY Jr., M.S.; CALDER, D.R.; WALLACE, R.A. Oocyte growth and development in the striped mullet, *Mugil cephalus*, during seasonal ovarian recrudescence: relationship to fecundity and size at maturity. **Fisheries Bulletin**, v.85, n.2, p.187-200, 1987.
- 16- KELLEY, C.J.; CONNOLLY, P.L.; BRACKEN, J.J. Life histories and reproduction: Maturity, oocyte dynamics and fecundity of the roundnose grenadier from Rockall Trough. **Journal of Fish Biology**, v.49, p.5-17, 1996.
- 17- LAM, T.J. Applications of endocrinology to fish culture. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.39, p.111-37, 1982.
- 18- LEE, C.S.; TAMARU, C.S.; MIYAMOTO, G.T.; KELLEY, C.D. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) by LHRH-a. **Aquaculture**, v.62, n.3/4, p.327-36, 1987.
- 19- MAYER, I.; SHACKLEY, S.E.; WITTHAMES, R.R. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. II. Fecundity and pattern of oocyte development. **Journal of Fish Biology**, v.36, p.141-8, 1990.
- 20- MIOSO, R.; CERQUEIRA, V.R.; MACCHIAVELLO, J.A.G. Indução à ovulação com HCG e desova natural do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 8., Piracicaba, 1994. **Resumos**. Piracicaba: Associação Brasileira de Aqüicultura, 1994. p.98.
- 21- ROMAGOSA, E.; PAIVA P.; GODINHO, H.M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. **Aquaculture**, v.86, n.1, p.105-10, 1990.
- 22- SERRALHEIRO, P.C.S.; FERRAZ, E.M.; GODINHO, H.M. Efeito da densidade de espermatozóides na fertilização de *Mugil platanus* (Günther, 1880). In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO SOBRE CIÊNCIAS DO MAR, 7., Santos, 1997. **Anais**. Santos: Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo e Associação Latino-Americana de Investigadores em Ciências do Mar, 1997. V.2. p.436-7.
- 23- SERRALHEIRO, P.C.S.; GODINHO, H.M.; PAIVA, P.; FERRAZ, E.M.; OLIVEIRA, I.R.; PIMENTEL, C.M.M.; TIAGO, G.G. Identificação de Centropomidae, na área 24° a 26° S. In: ENCONTRO DE BIÓLOGOS, 7., Ribeirão Preto, 1996. **Programa e Resumos**. Ribeirão Preto: Conselho Regional de Biologia, 1ª Região (SP, MT, MS), 1996. p.3-22.
- 24- SILVA, J.E. **Fisioecologia do camorim *Centropomus undecimalis* (Bloch 1792)**. Estudo experimental de crescimento em ambiente confinado. São Paulo, 1976. 101p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

GODINHO, H.M.; SERRALHEIRO, P.C.S.; FERRAZ, E.M.; PIMENTEL, C.M.M.; OLIVEIRA, IR.; PAIVA, P. Reprodução induzida do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 37, n.1, p. 37-42, 2000.

- 25- SOUZA, R.L.T.B.N. **Aspectos da reprodução do robalo, *Centropomus parallelus* Poey, 1860 (Pisces: Centropomidae) da região cacauera do Estado da Bahia**: um subsídio ao cultivo. Salvador, 1998. 164p. Dissertação (Mestrado em Produção Aquática) – Universidade Federal da Bahia.
- 26- TUCKER Jr., J.W. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. **Progressive Fish-Culturist**, v.49, p.49-57, 1987.
- 27- VERANI, J.R.; SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VIEIRA, L.J.S. Selection of recipient fish females for induced reproduction: a critery based on the relative condition factor. *In*: WORLD AQUACULTURE' 97., Seattle, 1997. **Book of Abstracts**. Seattle: World Aquaculture Society, 1997. p.478.
- 28 - WEST, G. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, v.41, p.199-222, 1990.

Recebido para publicação: 07/01/1998

Aprovado para publicação: 08/07/1999