

Departamento de Química Orgânica e Biológica  
Diretor: Prof. Dr. Fonseca Ribeiro

## DA OBTENÇÃO DE UM EXTRATO GLICERINADO PARA A HIPOFISAÇÃO DE PEIXES

Fonseca Ribeiro e J. F. Tabarelli Neto

Assistente

1 estampa (1 figura)

Em uma série de trabalhos, von IHERING e colaboradores (1 a 7), baseando-se nos estudos endocrinológicos, que mostraram a importante função do lóbo anterior da hipófise na esfera sexual, deu o primeiro passo, entre nós, para a introdução desses conhecimentos na piscicultura, a-fim-de se conseguir um processo que garantisse a desova dos peixes de "piracema" em ambientes de águas paradas.

Outros pesquisadores (8 a 14), continuaram a obra encetada por von IHERING, a qual, apesar de se encontrar ainda na fase de experiências já tem proporcionado bons resultados práticos, principalmente no Nordeste do país. No estrangeiro, diversos autores se interessaram pelo assunto e já existem alguns trabalhos a respeito, notadamente os de GERBILSKY (15 e 16), HASLER e colaboradores (17).

Quanto a técnica seguida na hipofisação dos nossos peixes podemos estabelecer 2 fases: na primeira, eram as hipófises, ainda frescas, trituradas em sôro fisiológico, e, essa suspensão integral da glândula, injetada no peixe. Muitos eram, porém, os inconvenientes decorrentes de tal processo: era necessário escolher os doadores no ato da hipofisação, sacrificá-los, craniotomizá-los e proceder-se à extração das glândulas, além de que os detalhes relativos a assepsia, eram sempre precários. Ainda nesta fase tentou-se o emprêgo de hipófises secas, as quais, contudo, não agiam com a mesma eficácia 6 meses após a desecação (4 e 10).

Numa segunda fase, PEDRO DE AZEVEDO e ESTEVÃO DE OLIVEIRA (18), deram um grande passo na técnica da hipofisação, ao verificarem a possibilidade de conservação da hipófise em álcool absoluto, veículo que não solubiliza o princípio gônado estimulante da glândula, nem lhe altera a potencialidade, mesmo após um ano.

De grande valor foi êsse achado, pois corrigiu em grande parte os inconvenientes do primeiro processo: permitiu que uma assepsia melhor fôsse observada durante a hipofisação, e consentiu usar-se com sucesso a técnica de "aplicação de pequenas doses repetidas (doses mínimas iniciais, com aumento progressivo), dentro de um prazo inferior ao da ação hormonal, a-fim-de evitar solução de continuidade no

estímulo inicial.” Além disso, “a conservação da hipófise em álcool absoluto veio abrir vasto campo para o estudo do hormônio gônado estimulante, não só no que diz respeito ao seu isolamento como também no que concerne ao emprêgo da hipófise de doadores nas diferentes fases da evolução sexual”.

Atualmente, de modo resumido, o processo consiste no seguinte: não existindo ainda uma unidade fisiológica, a própria glândula é usada como tal. Tiradas as hipófises do líquido conservador, são estas enxutas em papel de filtro e trituradas em água destilada; centrifuga-se e injeta-se o líquido sobrenadante pela via intramuscular, em volume nunca superior a 1 cm<sup>3</sup>. As doses variam, não só segundo a espécie, como também com o estado de maturação das gônadas dos receptores, obtendo-se melhores resultados, quando se inoculam quantidades gradativamente crescentes e intervaladas por espaço de tempo que vai de 5 a 6 horas. Geralmente a dose inicial varia de 1/8 a 1/4 de hipófise, e o número total de glândulas injetadas até a obtenção da desova, está, como é claro, na dependência das condições prévias do animal, comumente entre 2,5 a 5 hipófises.

Deve ser meticulosa a observação do técnico não só na escolha dos reprodutores a serem injetados, como também durante o período da hipofisação, de modo que as doses sejam reguladas de tal maneira a evitar uma discronia de maturação do macho para a fêmea, pois, a possibilidade de uma boa fecundação, está em se fazer com que o macho e a fêmea cheguem, simultaneamente, à maturação dos seus órgãos gônadais.

Por sugestão do Dr. ALCIBIADES MARQUES, diretor da ESTACÃO EXPERIMENTAL DE CAÇA E PESCA, propuzemo-nos fazer algumas pesquisas sôbre a questão.

Logo de início procuramos indagar da possibilidade de preparar um extrato eficiente de conservação duradoura o que, poderia tornar até certo ponto o método da hipofisação, ainda mais simples.

Trabalhamos com hipófises de *Prochilodus hartii* (Curimatá ♀), coletadas em PIRASSUNUNGA, durante a “piracema” de 1942, e até então conservadas em álcool absoluto. Dos vários extratos preparados, passamos a descrição da técnica daquele que mais eficaz se mostrou em nossa experimentação.

#### TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DO EXTRATO GLICERINADO

1.º — As hipófises retiradas do líquido conservador são enxutas em papel de filtro, pesadas e trituradas em gral. 2.º — Junta-se água destilada. 3.º — Leva-se à geladeira pelo espaço de 24 horas. 4.º Adi-

ciona-se glicerina, em volume duplo ao da água destilada. 5.º — Leva-se novamente à geladeira pelo espaço de 24 horas. 6.º — Centrifuga-se. 7.º — Despreza-se o sedimento e distribui-se o líquido sobrenadante, em pequenos vidros com rolha de borracha. O volume líquido, como é natural, depende da concentração que se deseja dar ao extrato. Geralmente adotávamos um volume total de líquido que permitisse 10 hipófises por centímetro cúbico.

Transcrevemos a seguir uma sùmula dos resultados por nós obtidos na hipofisação de peixes, por meio do extrato glicerinado, preparado segundo a técnica acima descrita. Estas provas foram realizadas no AQUARIO, do DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO ANIMAL, em *Cyprinus carpio*, em boas condições para a experiência.

DATA: 8/11/943.

ESPÉCIE: *Cyprinus carpio*, var. *specularis*. (Carpa espelho).

REPRODUTORES:

- 1 ♀ dando óvulos esbranquiçados ao se comprimir fortemente o ventre.
- 1 ♂ com esperma pouco fluido, com 20" de movimentação dos espermatozoides.

EXTRATO GLICERINADO de hipófise de *Prochilodus hartii*, (*Curimbatá* ♀), na concentração de 10 hipófises por cm<sup>3</sup>. (A quantidade relativa à dose, em hipófise a ser injetada, foi completada até o volume de 1 cm<sup>3</sup> com água destilada).

Doses	Dia	Hora	1 ♀	1 ♂	Veículo	Movimentação dos Espermatozoides
1. <sup>a</sup>	8	11	½ H	½ H	1 cm <sup>3</sup>	20"
2. <sup>a</sup>	8	16	¾ H	¾ H	1 cm <sup>3</sup>	100"
3. <sup>a</sup>	8	21	1 H	1 H	1 cm <sup>3</sup>	180"

RESULTADO: Desova durante a noite, tendo sido verificada às 6 horas do dia 9/11. Eclosão após 72 horas de incubação. Embriogênese normal. Larvas em pequena quantidade, (o macho ter-se-ia esgotado pouco antes da fêmea iniciar a desova).

DATA: 10/11/943.

REPRODUTORES E ESPÉCIE:

- 1 ♀, *Cyprinus carpio*, var. *specularis*. Ventre abaulado; dando óvulos esbranquiçados ao se comprimir fortemente o ventre.
- 1 ♂, *Cyprinus carpio*, (Carpa escama), com esperma pouco fluido, com 28" de movimentação dos espermatozoides.

EXTRATO: o mesmo que o da experiência anterior.

Doses	Dia	Hora	1 ♀	1 ♂	Veículo	Movimentação dos Espermatozoides
1. <sup>a</sup>	10	9	5 H	5 H	1 cm <sup>3</sup>	28"
2. <sup>a</sup>	10	14	7½ H	7½ H	1 cm <sup>3</sup>	135"
3. <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	19	10 H	10 H	1 cm <sup>3</sup>	300"

RESULTADO: Desova às 24 horas. Quantidade enorme de óvulos com ótima percentagem de fecundação, (foto 1). Embriogênese normal com aproveitamento integral. Eclosão após 76 horas de incubação. Ótimo desenvolvimento de larvas e alevinos.

O lote testemunha constituído de 2 ♂ e 1 ♀ *Cyprinus carpio*, e mantido nas mesmas condições do lote injetado, nada demonstrou.

Chamamos aqui a atenção para o grande número de hipófises utilizadas na última experiência, levando-se em conta a concentração do extrato, e o ótimo resultado obtido, o que afirma também a ausência da toxicidade.

Naturalmente, não nos podemos estribar nêstes únicos resultados que, contudo, não deixam de ser animadores.

Esperavamos tirar conclusões definitivas sôbre o assunto, em experiências levadas a efeito em PIRASSUNUNGA, durante a "piracema" de 1943. Infelizmente manifestou-se esta, de tal modo irregular, que não nos proporcionou o material desejado. Todavia, R. S. MENEZES (19), conseguiu nessa ocasião fazer algumas pesquisas, utilizando a nossa técnica. Embora pese o pequeno número de provas efetuadas, devido às circunstâncias acima expostas, foram também animadores os resultados colhidos, principalmente quando do uso de extratos preparados com hipófises de peixes machos e fêmeas com as gônadas em grau de maturação adiantada.

Externamos aqui os nossos agradecimentos àqueles que nos auxiliaram nestas experiências, principalmente aos Drs. BENEDITO BORGES VIEIRA, ARMANDO BOGGI e JOSÉ DE OLIVEIRA VAZ.

#### RESUMO

Com um extrato glicerinado de hipófises de *Prochilodus hartii*, (Curimatá ♀), cuja técnica é descrita, os AA. injetaram machos e fêmeas de *Cyprinus carpio*, (Carpa), conseguindo provocar a desova e subseqüente fecundação.

Numa 1.<sup>a</sup> prova injetaram ao todo, em série de 3 inoculações feitas em espaços de 5 horas, uma quantidade de extrato equivalente a 2,25 hipófises. Numa 2.<sup>a</sup> prova, utilizando a mesma técnica, inje-

taram uma quantidade equivalente a 22,5 hipófises. Tanto na 1.<sup>a</sup> como na 2.<sup>a</sup> experiências, a embriogênese foi normal e ótimo foi o desenvolvimento de larvas e alevinos.

#### ABSTRACT

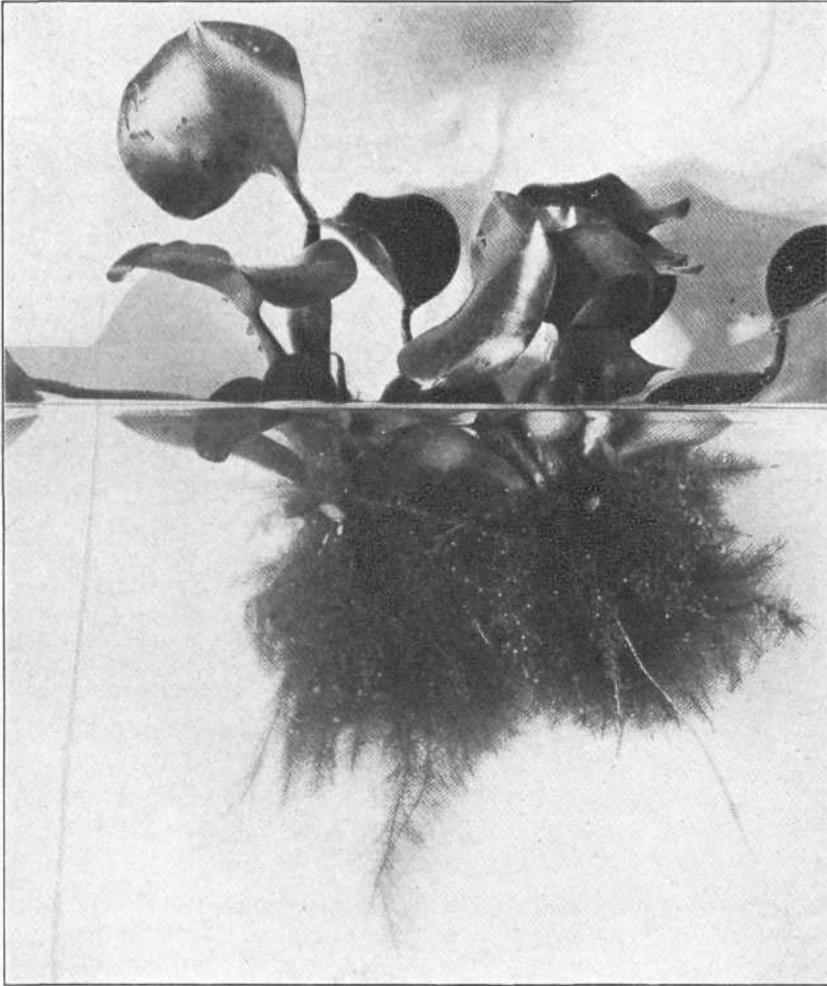
*With a glycerin extract of hypophysis from Prochilodus hartii, (Curimatá ♀), the technic beeing described, the authors injected Cyprinus carpio, (Carp), males and females, and they could induce spawning and subsequent fecundation.*

*In a first essay they injected an amount of extract equivalente to 2,25 hypophysis, in three series of inoculations from five in five hours. In a second essay, the same technic beeing used, they injected an amount equivalente to 22,5 hypophysis. In both experiences embryogeny was normal and larvas and alevins development a very good one.*

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — IHERING, R. von — AZEVEDO, P. DE — 1934 — A curimatã dos açudes nordestinos (*Prochilodus argenteus*). *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 5: 143-83.
- 2 — IHERING, R. von — 1935 — Die Wirkung von Hypophyseninjektion auf den Laichakt von Fischen. *Zool. Anz.*, 3: 273-9.
- 3 — IHERING, R. von — 1935 — O papel da hipófise na piscicultura nacional. *O Campo*, Rio de Janeiro, 6 (11): 22-3.
- 4 — IHERING, R. von — AZEVEDO, P. DE — 1936 — As piábas dos açudes nordestinos (Characidae, Tetragonopterinae). *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 7: 75-106.
- 5 — IHERING, R. von — AZEVEDO, P. DE — 1936 — A desova e a hypophysação dos peixes. Evolução de dois Nematognathas. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 7: 107-18.
- 6 — IHERING, R. von — 1937 — Bewegung des Ei-inhaltes zweier brasilianischer Süßwasserfische. *Zool. Anz.*, 120: 45-51.
- 7 — IHERING, R. von — AZEVEDO, P. DE — 1937 — Über die Wirkung des Säugtier-Hypophysenhormons auf den Laichakt der Fische. *Zool. Anz.*, 120 (3-4): 71-5.
- 8 — CARDOSO, D. M. — 1934 — Relação genito-hipofisaria e reprodução nos peixes. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 5: 133-6.
- 9 — PEREIRA JR., J. — CARDOSO, D. M. — 1934 — Hypophyse et ovulation chez les poissons. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 116 (11): 1133-4.
- 10 — AZEVEDO, P. DE — CANALE, L. — 1938 — A hipófise e sua ação nas gonadas dos peixes neotrópicos *Arg. Inst. Biol.*, S. Paulo, 9: 165-86.
- 11 — AZEVEDO, P. DE — VIEIRA, B. B. — 1940 — Realizações da Comissão Técnica de Piscicultura do Nordeste. *Arg. Inst. Biol.*, S. Paulo, 11: 23-38.
- 12 — MARQUES, A. — 1941 — A hipófise em piscicultura. *Bol. Ind. Animal N. S.*, 4: 114-23.
- 13 — MENEZES, R. S. — 1943 — O método de hipofisação de peixes na piscicultura. *O Campo*, Rio de Janeiro, 14 (160): 39-44.
- 14 — VIEIRA, B. B. — MARQUES, A. — 1942 — A desova da carpa provocada pela ação da hipófise de peixe. *Bol. Ind. Animal N. S.*, 5 (4): 164-71.

- 15 — GERBILSKY, N. L. — 1938 — L'influence de l'agent gonadotrope de l'hypophyse sur l'état de la fraieson chez l'«*Acipenser stellatus*». *C. R. (Doklady) Acad. Sci. U.R.S.S.*, 19 (4): 333-6.
- 16 — GERBILSKY, N. L. — 1938 — Effect des injections crâniennes de suspension d'hypophyse chez les téléostéens. *C. R. (Doklady), Acad. Sci. U.R.S.S.*, 19 (4): 327-31.
- 17 — HASLER, ARTHUR D. — MEYER, ROLAND K. — FIELD, HOWARD W. — 1940 — The use of hormones for the conservation of muskellunge. *Copeia 1940*, (1): 43-6, "in" *Biol. Abst.* 14: 15756.
- 18 — AZEVEDO, P. DE — OLIVEIRA, A. C. ESTEVÃO DE — 1939 — Sôbre o emprêgo da hipófise conservada em álcool na desóva dos peixes. "in" Livro de homenagem aos profs. Alvaro e Miguel Osorio de Almeida, 35-42.
- 19 — MENEZES, R. S. — Comunicação pessoal.



Ovos fecundados presos às raízes de água-pé.