

# Extratos de hipófise de frango e coelho na indução reprodutiva da carpa comum (*Cyprinus carpio*)

Ederval Donizeti de Souza, Danilo Pedro Streit Jr\*, Gentil Vanini de Moraes\*, Ricardo Pereira Ribeiro, Jayme Aparecido Povh, Rejane Machado Cardozo, Enio Lupchinski Junior, Eduardo Shiguero Sakaguti e Lauro Daniel Vargas Mendez

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.  
\*Autor para correspondência.

**RESUMO.** Cinquenta e três exemplares de *Cyprinus carpio* foram induzidos com três agentes indutores: extratos de hipófises de frango (EHF), coelho (EHCo) e como controle, de carpa (EHC). O volume médio de sêmen, a concentração de espermatozóides, o número total de espermatozóides liberados no sêmen, foram superiores nos machos tratados com EHF e EHC ( $p < 0,05$ ) em relação ao EHCo. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ), porém, para a motilidade progressiva, vigor espermático e a taxa de eclosão em função dos diferentes hormônios utilizados nos machos. Em fêmeas, as desovas, a unidade térmica acumulada, número de ovócitos/g de ovócitos liberados e a taxa de eclosão de acordo com hormônio utilizado na fêmea apresentaram melhor desempenho ao se utilizar EHF e EHC ( $p < 0,05$ ), comparado com EHCo. De acordo com os resultados encontrados, sugere-se a utilização do EHF para induzir machos e novas pesquisas em relação às fêmeas. O EHCo não promoveu estimulação satisfatória em machos e fêmeas.

**Palavras-chave:** desova, espermição, hipofisação, piscicultura, reprodução induzida, taxa de eclosão.

**ABSTRACT. Broiler chicken and rabbit pituitary extract on reproductive induction of common carp (*Cyprinus carpio*).** Fifty-three *Cyprinus carpio* specimen were induced with three gonadal inducers: broiler chicken (BCPE), rabbit (RPE) and carp pituitary extract (CPE), as control. The average semen volume, spermatoc concentration, total number of spermatozoa released in semen were higher in the males treated with BCPE and CPE ( $p < 0.05$ ) in relation to those treated with RPE. However, there was no difference ( $p > 0.05$ ) for progressive motility, spermatoc vigor and hatching rate as result of different hormones used in males. The hormones BCPE and CPE ( $p < 0.05$ ) showed better results than RPE in females, considering spawning, accumulated thermic unit, number of oocytes/g of released oocytes and hatching rate. The results suggest BCPE utilization to induce males and the development of new researches relating to females. RPE did not show satisfactory response in males nor in females.

**Key words:** spawning, spermatism, pituitary extract, fishculture, induced reproduction, hatching rate.

## Introdução

Nas últimas décadas, o consumo de pescado, alimento de primeira necessidade, tem aumentado em todo o mundo, especialmente em países subdesenvolvidos (FAO, 2001).

O Brasil possui 8.400km de extensão litorânea inteiramente diversificada, condições climáticas excelentes, e um rico recurso hídrico continental com potencial para a aqüicultura. A aqüicultura, no Brasil, produziu, em 1999, 120 mil toneladas, totalizando, com a pesca extrativa, 775 mil toneladas de pescado (FAO, 2001). Esse dado coloca o Brasil como o quarto maior produtor de pescado oriundo da aqüicultura na América Latina (FAO, 2001).

Os ciprinídeos têm importância fundamental na aqüicultura mundial, pois dentre as 15 espécies aqüícolas mais produzidas, sete são ciprinídeos (Arussi, 2000).

Dentre as espécies de peixes produzidas no Brasil, destaca-se a carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Ceccarelli *et al.*, 2000), espécie originária do leste da Ásia, introduzida no Brasil em 1822, por sua rusticidade, prolificidade e facilidade de cultivo (Castagnolli, 1992).

A carpa comum é omnívora, apresenta crescimento rápido, desova naturalmente na vegetação de fundo do tanque (Woyanovich e Horváth, 1983). Proença e Bittencourt (1994)

destacaram a rusticidade da carpa, o crescimento rápido e a boa resposta reprodutiva.

O *Cyprinus carpio* não necessita de indução hormonal para se reproduzir (Lin e Peter, 1991). Por outro lado, esse advento é adotado para essa espécie, com sucesso, para facilitar o manejo reprodutivo (Harvey e Carolsfeld, 1992). Amaral Jr. et al. (1996) trabalharam com *Cyprinus carpio* e induziram-nos com extrato de hipófise de carpa, tendo obtido desova em 90% das fêmeas.

A hipofização é a técnica mais utilizada para induzir à reprodução de peixes, devido à simplicidade e à praticidade do método (Donaldson e Hunter, 1983). Entretanto, o preço elevado do produto, associado à escassez em época de safra, apontam para a utilização de outros hormônios que possam contornar esse problema.

Hipófises de animais vêm sendo, sistematicamente, pesquisadas, como os trabalhos de Nwudukwe (1993) e Inyang e Hettiarachchi (1994), que utilizaram hipófises de anuros para induzir catfishs africanos; de aves também, como os estudos de Yu et al. (1995), que utilizaram hipófises de frangos, avestruz, peru, ganso e pato para induzir à ovulação as carpas prateadas. No Brasil, a hipófise de ave também tem sido testada em algumas espécies por pesquisadores como Amaral Jr. (1995) com tenca (*Tinca tinca*), Silva et al. (1997) com curimbatá (*Prochilodus lineatus*), Barroso (1999) com fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Streit Jr. (2002) com machos e fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

O objetivo deste trabalho foi testar o efeito dos extratos de hipófises de frango e de coelho em machos e fêmeas de carpa comum (*Cyprinus carpio*), usando como controle o extrato de hipófise de carpa, e também avaliar quali-quantitativamente a reprodução dessa espécie.

### Material e métodos

O experimento foi realizado de agosto a setembro de 2001, na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM)/Codapar, distrito de Floriano/Maringá, Estado do Paraná.

Foram selecionados 53 exemplares de *Cyprinus carpio*, sendo 27 machos e 26 fêmeas, com idade de dois a quatro anos, oriundos da Estação de Piscicultura da UEM e adquiridos junto a produtores da região. Os animais foram selecionados para a reprodução segundo os critérios de Woynarovich e Horváth (1983), no interior dos viveiros. Com a intenção de minimizar o estresse, os animais foram capturados com rede de arrasto, com 2,5cm entre os nós, e conduzidos, lentamente,

em toda a extensão do viveiro, visando obter, em um único arrasto, o maior número de exemplares com as características reprodutivas evidenciadas.

A seguir, os animais foram colocados em baldes de 20 litros, contendo água do próprio viveiro, levados para o laboratório da Estação, onde foram pesados para se determinar as doses hormonais a serem administradas.

No laboratório, os peixes foram identificados por marcadores coloridos colocados na nadadeira dorsal e acondicionados em tanques de manipulação, separados em machos e fêmeas. Os três tanques de manipulação de concreto possuíam capacidade para 2.000L, dispostos lado a lado. Cada tanque de manipulação continha uma coluna d'água de 50cm, com temperatura em torno de 26°C e 4 a 7mg/L de oxigênio dissolvido.

As hipófises de frango foram obtidas de animais com aproximadamente 45 dias de idade, provenientes da linha de abate de um abatedouro de Maringá e as hipófises de coelhos foram coletadas de animais abatidos na Fazenda Experimental de Iguatemi da UEM, com 60 a 70 dias de vida. A hipófise de carpa foi adquirida no mercado, pronta para ser utilizada.

As hipófises foram obtidas efetuando-se um corte que iniciava na região occipital, passando entre o olho e o ouvido, chegando ao meio da boca, ficando o cérebro do animal e a cela túrcica expostos e a hipófise extraída. No caso das aves, o corte foi efetuado com uma faca afiada e, no caso dos coelhos, com serra fita própria para açougue. A extração das hipófises da cela túrcica foi efetuada utilizando-se cureta odontológica ou agulhas de injeção de 25 x 8mm.

As hipófises de coelhos e de frangos foram retiradas e colocadas em recipientes de vidro contendo acetona (P.A.), acondicionados por dez horas. Após esse período, foi renovada a acetona, mantendo-se as hipófises por mais dez horas (Woynarovich e Horváth, 1983). Posteriormente, essas hipófises foram pesadas e passadas para um papel filtro e colocadas em um dissecador. Decorridas oito horas desse processo, as hipófises estavam prontas para serem utilizadas. As hipófises foram maceradas em Gral de 100mL, adicionando-se solução fisiológica a 0,7% de NaCl, em uma proporção de 4mg de hipófise para 1mL de solução salina (Woynarovich e Horváth, 1983).

Após o processo de seleção, transporte e acomodação das carpas, foi efetuada a indução hormonal (Tabela 1).

**Tabela 1.** Esquema de aplicação dos extratos de hipófises de carpa, de aves e de coelhos (mg/kg de peso vivo) em *Cyprinus carpio* visando à indução reprodutiva.

Sexo	Aplicação	Extrato de hipófise		
		Carpa	Frango	Coelho
Macho	Única	3,0	5,0	7,0
Fêmea	1º	0,5	1,0	1,4
	2º	5,0	9,0	12,6

As carpas, ao serem retiradas dos tanques de manipulação, foram protegidas por uma espuma de densidade 30 para evitar lesões, cobrindo-se a cabeça do animal com uma toalha de algodão úmida para evitar o estresse. A injeção hormonal foi feita com uma seringa graduada de 5mL e agulha de 27 x 7mm, na base da nadadeira peitoral, via intraperitoneal.

As fêmeas receberam duas dosagens de extrato de hipófise, com o intervalo de doze horas (Wonayrovich e Horváth, 1983). Foi feito o acompanhamento da temperatura da água com um termômetro de graduação Celsius. Após atingir 180 unidade térmica acumulada (UTA), as fêmeas de pacus passaram a receber leve pressão abdominal no sentido céfalo-caudal. Quando ocorria o início da extrusão foi determinada a UTA para o hormônio utilizado. A UTA foi determinada somando-se as temperaturas de hora em hora após a última aplicação até o momento da desova (Ceccarelli *et al.*, 2000). Ao atingirem 260 UTA, os machos receberam pressão abdominal no sentido encéfalo-caudal a fim de liberarem o esperma.

### Experimento I

Os gametas foram coletados segundo Woynarovich e Horváth (1983). A região uro-genital e a nadadeira anal foram secadas com papel toalha e realizada a extrusão, comprimindo-se a região abdominal do animal no sentido céfalo-caudal. Os ovócitos foram coletados em bacias plásticas devidamente identificadas. Em seguida, os animais foram devolvidos para seus respectivos aquários para mais tarde serem tratados com uma solução de sal (12g/l.) e devolvidos aos viveiros.

Do sêmen colhido de cada carpa foram analisados o volume, a concentração de espermatozoides, a motilidade progressiva, o vigor e o total de espermatozoides liberados.

Os resumos dos procedimentos realizados são apresentados a seguir segundo Sorensen Jr. (1979):

**Volume:** realizou-se a massagem abdominal crânio-caudal até esgotar-se a liberação do sêmen, coletado em vidro relógio e transferido para seringas graduadas de vários tamanhos.

**Concentração de espermatozoides:** o sêmen foi diluído em um Becker utilizando a pipeta de Shalli (0,02mL) em 40mL de formol-salina tamponada, resultando a diluição de 1:2000. Feita a diluição, preencheu-se, por capilaridade, a câmara de Neubauer e contaram-se os espermatozoides de cinco quadrados maiores do campo de 1mm<sup>2</sup>. Somando-se os espermatozoides contados nos referidos quadrados e dividindo por 80 quadrados pequenos, multiplicando por 400 quadrados pequenos, pela diluição e pela altura da câmara, obteve-se a quantidade de espermatozoides por mm<sup>3</sup> de sêmen.

**Motilidade progressiva e vigor espermático:** em uma lâmina de microscopia foi diluída 1 gota de sêmen com 8 gotas de água, observando-se ao microscópio de contraste de fase (400x), e, a seguir, avaliado por método subjetivo. Para a variável motilidade progressiva utilizou-se um escore de 0% à 100% e para o vigor espermático um escore de 0 a 5 pontos. A diluição do sêmen foi efetuada com água destilada à temperatura ambiente. Com os valores dos volumes individuais e da concentração espermática foi calculado o número de espermatozoides totais liberados no sêmen.

As variáveis avaliadas para as fêmeas são resumidas a seguir:

**Desova:** Número de animais que desovaram/número de animais induzidos x100.

Após a extrusão de cada fêmea, os ovócitos foram pesados em balança de 400g, com sensibilidade de duas casas, para em seguida, serem retiradas três amostras de um gramo para verificar a produtividade de óvulos (quantidade de óvulos/g de óvulos liberados).

**UTA:** a unidade térmica acumulada foi registrada a partir da aplicação da segunda dosagem do indutor até a liberação dos ovócitos.

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com os três tratamentos arranjados em fatorial de três hormônios e quatro repetições (semanas) para as fêmeas e cinco repetições (semanas) para os machos, por tratamento. Cada animal foi considerado uma unidade experimental.

O volume de sêmen, concentração de espermatozoides, número de espermatozoides totais liberados no sêmen, motilidade progressiva, vigor, desova, número médio de ovócitos/g de ovócitos liberados e UTA foram analisadas, separadamente, segundo o modelo estatístico, reproduzido a seguir:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + HS_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Em que:

$Y_{ijk}$  = observação referente ao macho ou a fêmea (k), recebendo o hormônio (i) na semana (j);  
 $\mu$  = constante geral;  
 $H_i$  = efeito do hormônio(i);  
 $S_j$  = efeito da semana(j);  
 $HS_{ij}$  = interação entre o hormônio (i) e a semana (j);  
 $\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado à observação do animal (k) que recebeu o hormônio (i) na semana (j).

## Experimento II

No experimento II, avaliaram-se as taxas de fertilização e a eclosão referente aos diferentes tratamentos utilizados em cada sexo. Os gametas masculinos e femininos foram obtidos de tratamentos feitos de acordo com as posologias dos extratos de hipófises indicados na Tabela 1.

As desovas foram acondicionadas em bacias plásticas limpas, secas e identificadas. Em seguida, foi colocado o sêmen por cima e os ovócitos foram, cuidadosamente, homogeneizados com uma pena de ganso (Woynarovich e Horváth, 1983). Após cerca de um minuto, ocorreu a fertilização dos ovos e estes foram colocados em incubadoras com capacidade de 60 litros de água com renovação constante com um fluxo de 1,8 l/min.

Após 9 horas de incubação, foi registrada a taxa de fertilização. A taxa de eclosão foi registrada entre dezesseis e dezoito horas após o início da incubação, de acordo com a temperatura vigente (25 e 27°C). Para o cálculo da percentagem de fertilização e da eclosão, foram retiradas três amostras das incubadoras através de um sifão e realizadas as contagens de 100 ovos em um estereomicroscópio de 30x, e com o valor das três contagens, foram calculadas as médias.

**Taxa de eclosão de acordo com o hormônio utilizado nos machos:** o sêmen coletado de cada macho induzido por um dos extratos utilizados foi dividido em três partes iguais e usado para fertilizar os ovócitos provenientes de fêmeas induzidas com um dos extratos de hipófise utilizados (carpa, frango ou coelho).

**Taxa de fertilização e eclosão de acordo hormônio utilizado nas fêmeas:** os ovócitos de cada fêmea foram divididos em três porções iguais e cada porção foi fertilizada com sêmen proveniente de um macho induzido com extrato de hipófise de carpa, frango ou coelho. Após a fertilização dos ovócitos com cada sêmen proveniente de um macho induzido com um dos extratos de hipófises, foram incubados, separadamente, para avaliar a taxa de eclosão dos ovos, avaliando-se o sêmen que foi utilizado para a fertilização.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, no qual os tratamentos foram arranjados em um fatorial 3x3x4 (três hormônios nos machos, três hormônios nas fêmeas e quatro semanas). A unidade experimental foi a junção dos gametas masculinos e femininos (ovos).

As variáveis taxas de fertilização e de eclosão foram analisadas segundo o modelo estatístico, levando-se em consideração os hormônios administrados em machos e em fêmeas:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + F_j + MF_{ij} + S_j + \varepsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = observação do hormônio (i) nos machos com o hormônio (j), nas fêmeas, na semana (k);  
 $\mu$  = constante geral;  
 $M_i$  = hormônio (i) nos machos;  
 $F_j$  = hormônio (j) nas fêmeas;  
 $MF_{ij}$  = interação do hormônio (i) nos machos com o hormônio (j) nas fêmeas;  
 $S_k$  = efeito da semana (k);  
 $\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado ao o hormônio (i) nos machos com o hormônio (j) nas fêmeas, na semana (k).

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SAS (1992).

As variáveis peso (machos e fêmeas), concentração de espermatozoides, volume, número de espermatozoides totais produzidos, UTA (fêmeas), número médio de ovócitos/g de ovócitos liberados, taxa de fertilização e de eclosão foram analisadas por meio do procedimento GLM, aplicando teste Tuckey ( $p < 0,05$ ). Para as variáveis, motilidade progressiva e vigor espermático, foi aplicado a distribuição Gamma com a função de ligação Log e o procedimento de análise GENMOD. Finalmente, para a variável desova, foi utilizado  $\chi^2$  (Qui-Quadrado) ( $p < 0,05$ ).

## Resultados e discussão

### Análise espermática do *Cyprinus carpio*

Os resultados da análise espermática, tratados com extrato de hipófise de frango (EHF), extrato de hipófise de coelho (EHCo) e extrato de hipófise de carpa (EHC), são apresentados na Tabela 2. Os pesos médios dos animais machos utilizados nos três tratamentos não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ).

A análise de sêmen, em peixes, não é realizada como rotina. Kucharczyk et al. (1999), no entanto, registraram limitado número de trabalhos abordando problemas relacionados à espermiacão, nos quais, em populações selvagens de carpa, a qualidade do sêmen é um fator preponderante na

taxa de eclosão, o que também poderia ser importante para carpas domesticadas.

O volume médio de sêmen produzido pelos animais tratados com EHC<sub>o</sub> (2,9mL) foi menor ( $p < 0,05$ ) quando comparado àqueles tratados com EHF (8,9mL) e controle EHC (8,2mL).

**Tabela 2.** Peso médio dos machos, volume de sêmen, concentração espermática, número de espermatozoides/mm<sup>3</sup>, motilidade progressiva, vigor espermático, taxa de eclosão de acordo com o hormônio utilizado no macho induzido com extratos de hipófise de carpa, coelho e frango.

Variáveis	Extrato de hipófise*			CV (%)
	Carpa (EHC)	Frango (EHF)	Coelho (EHC <sub>o</sub> )	
Peso (kg)	2,0a	1,7a	2,0a	28,9
Volume de sêmen (mL)	8,2a	8,9a	2,9b	57,9
Concentração de espermatozoides (mm <sup>3</sup> )	23,8x10 <sup>6</sup> a	24,8x10 <sup>6</sup> a	18,6x10 <sup>6</sup> b	61,7
Taxa de eclosão de acordo com o hormônio utilizado no macho (%)	65,7a	71,4a	58,0a	22,4
Número total de espermatozoides liberados no sêmen	19,5x10 <sup>10</sup> a	22,0x10 <sup>10</sup> a	5,3x10 <sup>10</sup> b	63,7
Motilidade progressiva (%)	93,1a ±11,0	94,4a ±7,77	80,7a ±22,8	
Vigor espermático (0 a 5 pontos)	3,2a ±0,83	3,4a ±0,68	3,1a ±0,69	

Letras diferentes, na mesma linha, indicam diferenças ( $p < 0,05$ ); CV – Coeficiente de Variação; \* = EHC; EHF; EHC<sub>o</sub> = mg/kg

O pouco volume de esperma produzido pelos machos de *Cyprinus carpio* tratados com EHC<sub>o</sub> pode estar relacionado à falta de receptores gonadais para os hormônios encontrados na hipófise do coelho. Hafez e Hafez (2000) afirmaram que cada hormônio possui um efeito seletivo sobre um ou mais órgãos-alvo, além do que as ligações específicas são mecanismos usuais encontrados em grande parte dos mamíferos. Outro fator que deve ser levado em consideração é a idade de 70 dias em que os coelhos foram abatidos e também o fato de não se encontrarem em período reprodutivo, o que levaria a pensar na falta de hormônios gonadotrópicos para causar indução. Os coelhos, normalmente, atingem a puberdade entre 90 e 120 dias, momento considerado normal para liberar gametas e manifestar comportamento sexual. Aves domésticas atingem a puberdade entre 125 e 145 dias (Hafez e Hafez, 2000). As aves destinadas ao abate comercial, em função do regime alimentar e da luz, acredita-se que atingem a puberdade por volta dos 50 a 60 dias de idade. A escolha de coelhos com essa idade, considerada imatura, deve-se ao possível aproveitamento da cabeça, considerada descarte no abate comercial desses animais.

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) em relação à concentração de espermatozoides/mm<sup>3</sup> para os animais tratados com EHC e EHF; porém, os animais induzidos com (EHC<sub>o</sub>) não apresentaram estímulos, talvez devido à imaturidade dos coelhos

quando as hipófises foram colhidas ou devido à falta de receptores gonadais ao FSH e LH.

Em *Cyprinus carpio*, induzidos com EHC<sub>o</sub>, houve uma correlação entre menor volume de sêmen com menor concentração de espermatozoides/mm<sup>3</sup>, sugerindo uma ação positiva do EHC e EHF no aumento de células por mm<sup>3</sup> para os machos que responderam ao tratamento, pois verificou-se maior produção de sêmen, assim como maior concentração de espermatozoides/mm<sup>3</sup>, quando comparados com animais tratados com EHC<sub>o</sub>. Streit Jr. (2002), ao induzir *Piaractus mesopotamicus* com EHC<sub>o</sub>, constatou o volume médio de sêmen de 1,8 mL quando comparado com EHF (11,2mL) e EHC (12mL); por outro lado, a concentração de espermatozoides/mm<sup>3</sup> foi 50% maior nos animais tratados com EHC<sub>o</sub>.

O número total de espermatozoides encontrados no sêmen liberado está diretamente relacionado ao volume e à concentração. Animais induzidos com EHC<sub>o</sub> apresentaram menor quantidade ( $p < 0,05$ ) de espermatozoides em relação aos induzidos com EHF e EHC. Esses dados parecem evidenciar a ação do EHF em aumentar o volume de sêmen, bem como o número de células produzidas e não apenas aumentar a fluidez do sêmen, como foi constatado no trabalho de Pardo-Carrasco (2001), que induziu machos de yamú (*Brycon siebenthalae*) com EHC e mGnRH-a (análogo sintético do hormônio liberador das gonadotrofinas de mamíferos). O autor observou que nos animais induzidos com EHC houve um aumento da fluidez do sêmen e não aumento no número de células, apesar desses animais produzirem 10 vezes mais quantidade de sêmen que os animais induzidos com mGnRH-a. Para os dados de Bedore (1999), que induziu *Piaractus mesopotamicus* e *Brycon orbignyanus* com EHC e comparou com animais sem indução, observou-se um aumento no número total de células para os animais induzidos, o que corresponde aos dados encontrados neste trabalho com *Cyprinus carpio*.

A motilidade progressiva e o vigor espermático não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, apesar de nos animais tratados com EHC<sub>o</sub>, as médias absolutas serem menores que EHF e o controle. Bromage (1995) mencionou que a qualidade dos espermatozoides produzidos e, nesse caso, pode-se considerar o vigor espermático e a motilidade progressiva, estar diretamente ligado ao estado nutricional, idade e o genótipo do animal. Essa afirmação pode ser considerada válida para este trabalho, pois animais tratados com EHC<sub>o</sub> mostraram, em outras variáveis analisadas (volume, concentração de espermatozoides/mm<sup>3</sup> e total de

espermatozoides liberados no sêmen), ser pequena, mas para o vigor espermático e a motilidade progressiva verificou-se boa resposta. Silveira et al. (1990), ao induzirem machos de *Piaractus mesopotamicus*, verificaram motilidade progressiva média de 90%, sendo considerada excelente para o sêmen analisado. Kucharczyk et al. (1999) avaliaram o esperma produzido por ciprinídeos (*Leuciscus idus*) induzidos com ovopel e EHC e constaram que a motilidade progressiva ficou entre 66% e 67%. Deste modo, os resultados de motilidade progressiva e vigor espermático obtidos nos três tratamentos, neste experimento, podem ser considerados ótimos.

A taxa de eclosão, de acordo com o hormônio utilizado, verificado neste experimento, não variou ( $p > 0,05$ ). Os resultados foram 71,4% no tratamento com EHF, 58% nos tratados com EHCo e 67,7% nos tratados com EHC. Verificou-se alta variabilidade nas médias, o que pode ser atribuído ao reduzido número de observações por tratamentos.

Linhart e Kvasnicka (1992) observaram que, em fecundação com sêmen em que a motilidade espermática foi de 80%, a taxa média de eclosão foi de 71,4% utilizando EHC em tenca (*Tinca tinca*). Kucharczyk et al. (1997) constataram que o hormônio indutor influenciou a motilidade progressiva quando induziram bream (*Abramis brama*) com extrato de hipófise de bream, de carpa e duas diferentes doses de hCG (Gonadotrofina Coriônica humana). Neste experimento, para os animais tratados com EHF, a motilidade progressiva foi acima de 90% e a eclosão, de acordo com a origem do sêmen, foi de 71,4%. Essa correlação entre motilidade progressiva e taxa de eclosão, de acordo com a origem do sêmen, parece ser válida para *Cyprinus carpio* e *Tinca tinca*.

A qualidade dos gametas gerados é um dos pré-requisitos para uma boa taxa de eclosão. Mohler e Fletcher (1999) induziram o esturjão do Atlântico (*Acipenser oxyrinchus*), mantido em cativeiro, com EHC e LHRH-a e verificaram taxa de eclosão baixa. Os autores associaram o confinamento à qualidade ruim dos gametas produzidos, tanto o masculino quanto o feminino, quando comparados com gametas produzidos em ambientes naturais. Neste experimento, os ovócitos foram divididos em partes iguais e fertilizado com sêmen originados de animais induzidos com EHF, EHCo e EHC. Desta maneira, a influência do ovócito, na fertilização, é igual à do sêmen originado dos três tratamentos.

#### Desova de *Cyprinus carpio*

A Tabela 3 apresenta os dados referentes às desovas, unidade térmica acumulada, número médio

de ovócitos/g de ovócitos liberados, taxa de eclosão em conformidade com o hormônio utilizado na fêmea e o peso dos *Cyprinus carpio* tratados com EHF, EHCo e EHC.

As fêmeas de *Cyprinus carpio* selecionadas e submetidas aos diferentes tratamentos hormonais com o EHF, EHCo e EHC não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) em relação ao peso (Tabela 3).

As desovas foram favoráveis às fêmeas tratadas com EHF em relação aos de EHC ( $p < 0,05$ ), porém, as tratadas com EHCo não responderam positivamente ao tratamento. A resposta negativa das fêmeas de *Cyprinus carpio*, quando utilizou-se EHCo, pode estar relacionada à hipótese levantada para os machos, neste trabalho, que pode ser devido à incompatibilidade de hormônios gonadotrópicos encontrados nos mamíferos ou à pouca idade dos animais que forneceram as hipófises, o que poderia levar a uma redução na concentração dos hormônios gonadotrópicos.

O EHF foi efetivo em quase 50% das fêmeas testadas. Amaral Jr. (1995) induziu fêmeas de tenca (*Tinca tinca*) com EHF e hCG e verificou que 100% dos animais induzidos com EHF responderam positivamente aos tratamentos. Yu et al. (1995) induziram fêmeas de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) com extrato de hipófise de frango, pato, ganso, avestruz e peru e verificaram que o extrato de hipófise de frango foi o único agente indutor da desova nessa espécie de carpa, provavelmente pela ação dos hormônios gonadotrópicos encontrados na hipófise de frango serem semelhantes aos de peixes. Silva et al. (1997) induziram a curimbatá (*Prochilodus lineatus*) com extrato de hipófise de frango e constataram que a maturação gonadal ocorreu em 100% das fêmeas induzidas. Barroso (1999) induziu o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com EHF e constatou a ação positiva desse hormônio na desova. Os resultados encontrados no presente trabalho, para o *Cyprinus carpio*, induzido com EHF demonstraram ser otimistas quanto à utilização desse agente indutor para espécies de peixes no período reprodutivo.

A unidade térmica acumulada (UTA) não apresentou diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos com EHF e EHC. Entretanto, vale ressaltar a tendência de uma maior UTA nos animais tratados com EHF (Tabela 3). Esse fato deve estar relacionado com a velocidade de assimilação dos hormônios existentes no EHF, pelos animais, como o GtH-I e GtH-II. A UTA pode variar de acordo com a espécie, com o método de indução e o hormônio utilizado (Lam, 1983; Ceccarelli et al., 2000). Yu et al. (1995) induziram o loach

(*Paramisgurnus dabryanus*) com extrato de hipófise de carpa comum, carpa capim, pato e frango, nas médias da temperatura da água entre 16°C e 22°C e verificaram que os animais induzidos em temperatura inferiores ovularam somente entre 80 e 120 UTA e em temperatura mais elevadas a UTA foi de 168. Sato *et al.* (1996a) hipofisaram o *Prochilodus marginatus* com EHC à temperatura média da água de 24°C e extrusaram esses animais com 227 UTA. Para o *Prochilodus affinis*, Sato *et al.* (1996b) encontraram 219 UTA nas médias de temperatura da água de 23,9°C, utilizando o EHC. Suresh *et al.* (2000) utilizaram o hCG e GnRH-a para induzir a desova o *Morone chrysops*, com média na temperatura da água de 16°C e observaram que os animais induzidos com GnRH-a liberaram óvulos antes do período de latência com o hormônio hCG.

**Tabela 3.** Peso médio, desovas, unidade térmica acumulada (UTA), número médio de ovócitos/g de ovócitos liberados e taxa de eclosão dos ovos de acordo com o hormônio utilizado nas fêmeas de *Cyprinus carpio* induzidas com extrato de hipófise de carpa, frango e coelho.

Variáveis	Extrato de hipófise *			CV (%)
	Carpa (EHC)	Frango (EHF)	Coelho (EHCo)	
Peso (kg)	1,8a	2,7a	2,2a	41,5
Desovas (%)	75a	44b	0c	
Unidade térmica Acumulada (UTA)	214a	372a	-	8,01
Número médio de ovócitos/g de ovócitos liberados	605a	504a	-	3,27
Taxa de eclosão dos ovos de acordo com hormônio utilizado (%)	73,4a ±11,9	62,4a ±20,9	-	

Letras diferentes, na mesma linha, indicam diferenças (p<0,05); CV = Coeficiente de variação; \* = EHC; EHF; EHCo = mg/kg

Os tratamentos hormonais não influenciaram sobre o número médio de ovócitos/g de ovócitos liberados (p>0,05). Entretanto, os animais induzidos com EHC tenderam a produzir mais ovos que os animais induzidos com EHF (Tabela 3). Lovell (1989) relacionou algumas características reprodutivas que influenciaram na desova, como o estado nutricional do peixe. Ceccarelli *et al.* (2000) afirmaram que o número de ovócitos está relacionado com o tamanho do animal e a espécie de peixe estudada. Neste estudo, todos os peixes tiveram o mesmo peso. Parece que os indutores hormonais não influenciam quanto ao número de ovócitos/g de ovócitos liberados na desova, mesmo tendo sido média 605 ovócitos/g de ovócitos liberados na desova para o EHC e de 504 ovócitos/g de ovócitos liberados na desova para o EHF, inferiores aos 800 ovócitos/g de ovócitos liberados na desova observados por Ceccarelli *et al.* (2000) em outros ciprinídeos. Quando se utilizou o EHCo, não foi verificada desova, o que não permitiu avaliar a

produção de ovos e as demais características relacionados à desova.

As fêmeas induzidas com EHC e EHF não mostraram (p>0,05) a mesma taxa de eclosão de acordo com o hormônio utilizado nas fêmeas (Tabela 3). Brzuska e Grzywaczewski (1999) induziram duas linhagens de *Cyprinus carpio* com EHC e ovopel (GnRH-a) e verificaram médias de 88,2% e 91,6% de fertilização dos ovócitos com vinte e quatro horas de incubação. Por outro lado, as médias de fertilização foram de 89,1% para a linhagem Strain Dor-70 e 90,6% para a linhagem Cross-breed 5.

Neste trabalho, a taxa de eclosão mostrou não ter sofrido influência dos hormônios testados. Esse fato pode estar relacionado com a observação de Bromage (1995), que destacou a influência da qualidade da alimentação dos reprodutores, condições ambientais, estresse na captura, manipulação no tanque de indução, genética, condições de incubação, estágio de maturação, entre outros, sobre a taxa de eclosão. No presente estudo, talvez esses fatores também possam ter recebido influência.

Nas condições que este trabalho foi realizado pode-se indicar o extrato de hipófise de frango (EHF) para induzir machos de *Cyprinus carpio*, pois as variáveis testadas e comparadas com os resultados do controle (EHC) evidenciaram a ação positiva. As fêmeas induzidas com EHF responderam com valores inferiores aos do EHC, o que leva a sugerir novas pesquisas que possam determinar o grau de maturação dos ovócitos (técnica de canulação; posição do núcleo). A indução em machos e fêmeas de carpa *Cyprinus carpio* com EHCo não tiveram respostas positiva. Os resultados sugerem novas pesquisas futuras com extratos de hipófise de coelhos mais velhos ou, pelo menos, com idade proporcional aos dos frangos em relação à puberdade.

### Referências

- AMARAL JÚNIOR, H. Utilização de extrato hipofisário de galinha para a indução a desova de tenca. Opção de banco de hipófise para o pequeno produtor rural. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 6, 1995, Ibirubá. *Anais...* Ibirubá: UFRGS, 1995. p.154-162.
- AMARAL JUNIOR, H. *et al.* Observações preliminares da reprodução semi-artificial de carpa comum, *Cyprinus carpio*, utilizando indução hormonal e ambiente controlado, para desova natural em substrato tipo rafia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9., 1996, Sete Lagoas. *Anais...* Sete Lagoas: ABRAQ, 1996. p.64.

- ARUSSI-ANNUAL REPORT ON THE UNITED STATES SEAFOOD INDUSTRY. *Report*. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <<http://www.wordcatch.com>>, 2002.
- BARROSO, R.M. *Utilização do extrato bruto de hipófise de frango de corte (Gallus domesticus) na indução da maturação final oocitária e da desova em pacu (Piaractus mesopotamicus)*. (HOLMBERG, 1887). 1999. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 1999.
- BEDORE, A.G. *Características e criopreservação do sêmen de pacu-caranha (Piaractus mesopotamicus) e de piracanjuba (Brycon orbignianus)*. 1999. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 1999.
- BROMAGE, N. Broodstock management and seed quality-general considerations. In: BROMAGE, N.; ROBERTS, R.J. (Ed.). *Broodstock management and egg larval quality*. Oxford: Blackwell Science, 1995. cap.1, p.1-24.
- BRZUSKA, E.; GRZYWACZEWSKI, R. Artificial spawning of carpa *Cyprinus carpio* L.: differences between the effects on reproduction in females of Israeli strain Dor-70 and its cross-breed treated with carp pituitary and Ovopel. *Aquac. Res.*, Oxford, v.30, no.8, p.559-570, 1999.
- CASTAGNOLLI, N. Espécies exóticas próprias para a piscicultura. In: CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1992. cap 9, p.71-96.
- CECCARELLI, P.S. et al. *Dicas em piscicultura: perguntas e respostas*. Botucatu: Santina Gráfica Editora, 2000.
- DONALDSON, E.M., HUNTER, G.A. Induced final maturation, ovulation, and spermiation. In: HOAR, W.S. *Fish Physiology*. Orlando: Academic Press, 1983. cap. 7, p.352-403.
- FAO-FUNDO DA ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. *Estatísticas*. 2001 Disponível em <<http://www.fao.org/pesca/estatistica>>. Acesso em: 10 jul. 2001.
- HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. *Reproduction in farm animals*. 7.ed. Philadelphia: Lippicott Williams e Wickins, 2000.
- HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. *Induced breeding in tropical fish culture*. Ottawa: IDRC, 1993.
- INYANG, N.M.; HETTIARACHCHI, M. Efficacy of human chorionic gonadotropin (HCG) and crude pituitary extract of fish and frog in oocyte maturation and ovulation in African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 and *Clarias anguillaris* L. 1762. *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v. 25, no. 2, p. 245-258, 1994.
- KUCHARCZYK, D. et al. Induced spawning in bream, *Abramis brama* (L.), using carp and bream pituitary extract and HCG. *Aquacult. Res.*, Oxford, v.28, no.2, p.139-144, 1997.
- KUCHARCZYK, D. et al. Artificial spawning of ide (*Leuciscus idus*) under controlled conditions. *Eletronic J. Polish Agricultural Universities*, Wroclawiu, v.2, no.2, p.1-8, 1999.
- LAM, T.J. Environmental influences on gonadal activity in fish. In: HOAR, W.S. (Ed.). *Fish Physiology*. Orlando: Academic Press, 1983. cap. 2, p.65-116.
- LIN, H. R.; PETER, R.E. Aquaculture. In: WINFELD, I.J.; NELSON, J.S. (Ed.). *Cyprinid fishes systematics, biology and exploitation*. Suffolk: St. Edmundshury Press, 1991. cap 5, p.603-622.
- LINHART, O.; KVASNICKA, P. Artificial insemination in tench, *Tinca tinca* L. *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v. 23, no.2, p.183-188, 1992.
- LOVELL, T. The concept of feeding fish. In: LOVELL, T. (Ed.). *Nutrition and feeding of fish*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. cap.1, p.1-10.
- MOHLER, J.W.; FLETCHER, J.W. Induced spermiation in wild Atlantic sturgeons held captive up to six years. *N. Am. J. Aquacult.*, Bethesda, v. 61, no.1, p.70-73, 1999.
- NWADUKWE, F.O. Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Heterobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Clariidae), using frog pituitary extract. *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v.24, no.6, p.625-630, 1993.
- PARDO-CARRASCO, S.C. *Reprodução induzida do yamú, Brycon siebenthalae (Pisces Characiforme)*. 2001. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.
- PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. *Manual de piscicultura tropical*. Brasília: IBAMA, 1994.
- SAS INSTITUTE Inc. *SAS technical report: Release 6.07*. Cary: NC, 1992.
- SATO, Y. et al. Hypophysation of the anostomid fish white-piau *Schizodon knerii* from the Rio São Francisco basin. *Arq. Bras. Med. Veter. Zootec.*, Belo Horizonte, v.48, n.1, p.63-70, 1996a.
- SATO, Y. et al. Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the Rio São Francisco basin, Brazil. *Arq. Bras. Med. Veter. Zootec.*, Belo Horizonte, v.48, no.1, p.55-62, 1996b.
- SILVA, J.A. et al. Utilização de extrato cru de hipófise de frangos (*Gallus domesticus*) como indutor de desova em curimatá (*Prochilodus scrofa*). *Rev. Bras. Rep. Anim.*, Belo Horizonte, v.21, no.2, p.30-32, 1997.
- SILVEIRA, W.F. et al. Avaliação espermiática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg), proveniente de reprodução induzida. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v.17, no.1, p.1-13, 1990.
- SORENSEN, A.M. Jr. *A laboratory for animal reproduction*. 4.ed. Massachusetts: American Press, 1979.
- STREIT Jr, D.P. *Extrato de hipófise de frango e de coelho como indutores gonadais de pacu (Piaractus mesopotamicus) macho e fêmea, em comparação com o extrato de hipófise de carpa*. 2002. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- SURESH, A.V. et al. Single injections of human chorionic gonadotropin or mammalian gonadotropin releasing hormone analog at low dosages induce ovulation in white bass. *N. Am. Fish. Soc.*, Bethesda, v.62, p.87-94, 2000.
- YU, J.Y.L. et al. Comparative effects of avian and piscine gonadotrophins on gonadal steroidogenesis, and of avian and piscine pituitaries on induction of spermiation and ovulation in the loach and white silver carp. *Aquaculture*, Amsterdam, v.135, no.1, p.59-72, 1995.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.* Brasília: Escopo. 1983.

*Received on July 26, 2002.*

*Accepted on December 17, 2002.*