

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CCA  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA – AQI  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

MATURAÇÃO DO ROBALO-FLECHA *Centropomus undecimalis* E  
CRESCIMENTO DE ALEVINOS DO ROBALO-PEVA *Centropomus  
parallelus* EM LABORATÓRIO

EDUARDO DE MEDEIROS FERRAZ

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Aquicultura do Centro de  
Ciências Agrárias da Universidade Federal  
de Santa Catarina, como requisito parcial à  
obtenção do título de Doutor em  
Aquicultura,

Orientador: Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira

Área: Piscicultura Marinha

Florianópolis  
2009

Ferraz, Eduardo de Medeiros

Maturação do robalo-flecha *Centropomus undecimalis* e crescimento de alevinos do robalo-peva *Centropomus parallelus* em laboratório / Eduardo de Medeiros Ferraz – 2009.

132 f : fgs.tabs

Orientador: Vinicius Ronzani Cerqueira

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

1. *Centropomus undecimalis*; 2. *Centropomus parallelus*; 3. maturação; 4. regimes térmicos; 5. tratamentos hormonais

**Maturação do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* e crescimento de alevinos do robalo-peva *Centropomus paralellus* em laboratório.**

Por

EDUARDO DE MEDEIROS FERRAZ

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

**DOUTORA EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

---

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira – *Orientador*

---

Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães

---

Dr. Evoy Zaniboni Filho

---

Dr. Hilton Amaral Júnior

---

Dr. Ronaldo Olivera Cavalli



Aos meus pais Carlos e Magdalena, pelo amor, carinho e educação.

Aos irmãos Fernando e Gustavo, pela amizade do dia a dia.

À Cilene pela compreensão e amor recebido.

Obrigado



## AGRADECIMENTOS

Antes de qualquer coisa, a todas as pessoas que tornaram este trabalho possível, principalmente minha família em especial meu pai e minha mãe, a Cilene no apoio de todos os dias.

Ao Instituto de Pesca, da Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio que possibilitou meu afastamento para realização do trabalho.

Ao professor Vinicius Ronzani Cerqueira, pela possibilidade de trabalhar novamente a seu lado, nesta jornada.

Ao professor Evoy Zaniboni Filho, pela co-orientação.

À Professora Mônica Yumi Tsuzuki pela atenção e sugestões.

Ao colega José Luiz Pedreira Mouriño do LCM pela força na estatística.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação

Aos Técnicos do LAPMAR, Sayão e Vaico meus irmãos em Floripa, valeu toda ajuda. Ao Israel por todo apoio.

Às colegas do Instituto de Pesca, Patrícia de Paiva e Massuka Yamane Narahara pelo apoio e ajuda no trabalho de volta a São Paulo.

Ao meu terceiro irmão em Floripa, o Lim, grande companheiro.

A todos os colegas do mestrado, Flávio, Thiago, Rodrigo, Alexander, Moisés, Maria, Juliano, Fábio, Humberto, Guilherme...

E os colegas do doutorado, Márcia, Sami, Danieli, Aquiles, Simone, Ana...

Aos colegas dos laboratórios, Jaque, Ana, Tatu, Chico, Marisa, Cláudio...

A todos estagiários que passaram pelo LAPMAR e tiveram que me ouvir falar um monte, muito obrigado pelo apoio e esforço de todos.

À bela Florianópolis minha segunda casa.





## PROPOSTA DA TESE

Este trabalho se origina de uma demanda do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), de aprimorar técnicas de maturação em laboratório para o robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, visando a reprodução em cativeiro e conseqüente melhoria na produção de larvas e alevinos. O fato é que em condições de laboratório, a outra espécie de robalo mantida no LAPMAR, o robalo-peva, *Centropomus parallelus* atinge a maturação com certa facilidade. O mesmo não se observa para o robalo-flecha. Desta maneira, imagina-se que a espécie apresente alguma falha no processo reprodutivo em condições de cativeiro (fêmeas vitelogênese e machos espermatogênese) e que a solução para o problema esteja em encontrar os possíveis fatores, físico-químico (temperatura da água, fotoperíodo, etc) ou biológicos (aspectos nutritivos, ou de falhas nos processos endócrinos) que possam solucionar os baixos desempenhos de maturação da espécie, atualmente observados no laboratório.

Dentro deste contexto, levantou-se dentre a bibliografia existente até o momento, informações que pudessem dar subsídios para o desenvolvimento do trabalho. É dessa maneira que partimos de critérios mais simples como a utilização de variação de temperatura e simulação de luz, até fatores mais específicos do controle endócrino através de manipulações hormonais.

Em relação ao robalo-peva *C.parallelus*, atualmente cultivado no laboratório, tem-se obtido grandes progressos na sua produção. Experimentos estão sendo conduzidos no laboratório atualmente visando a sua produção em escala comercial. Visto que a maturação, desova e larvicultura em laboratório encontram-se bastante avançadas, a maior dificuldade em relação à espécie é um crescimento relativamente lento. Na literatura consultada, verificamos que na Espanha muito se tem feito em relação a mudanças na proporção sexual do robalo europeu Sea bass baseadas em choque de temperatura, visto que a produção naquele país é fortemente influenciada pelas condições da larvicultura e a proporção de machos acaba sendo muito superior à produção de fêmeas. Os pesquisadores perceberam que as fêmeas têm um maior potencial de crescimento, principalmente pelo fato do processo de primeira maturação ocorrer antes nos machos. Desta forma a produção de um maior número de fêmeas é de grande interesse na produção comercial. No caso dos robalos, o potencial das fêmeas é bastante parecido em vista do observado em populações selvagens e em cativeiro.

Desta maneira, os trabalhos realizados para as questões levantadas foram divididos da seguinte maneira:

- Capítulo II: Para realização deste estudo foi realizada uma série de adaptações nas salas de maturação do LAPMAR para propiciar condições de maior conforto para os animais. Placas de proteção ao redor dos tanques foram erguidas de maneira a evitar o contato visual no interior das salas com os tratadores. Desenvolvimento de sistemas de iluminação e de controle de temperatura para alcançar as metas desta primeira etapa do trabalho referente ao período reprodutivo 2006/2007.
- Capítulo III: Dois períodos reprodutivos, (2007/2008) e (2008/2009) foram empregados para esta segunda etapa do trabalho baseada na utilização de indutores hormonais, com destaque para uso implantes com elastômero no primeiro período e, no segundo, da utilização do hormônio folículo estimulante FSH na indução dos animais.
- Capítulo IV: Neste estudo foi necessário o desenvolvimento de sistema para controle da temperatura da água e também estudo aprofundado do material histológico processado. Isto para verificar a influência da temperatura de cultivo sobre alevinos do robalo-peva em relação a crescimento e influência na proporção sexual.

Produção bibliográfica durante o desenvolvimento do trabalho de doutoramento:

Artigo publicado:

SOLIGO, T.A.; FERRAZ, E.M.; CERQUEIRA, V.R.; TSUZUKI, M.Y. Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura II. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, 2008. p. 143 – 152.

Artigo enviado para publicação

FERRAZ, E.M.; CERQUEIRA, V.R.; Influência de diferentes regimes térmicos na maturação sexual de machos do robalo-flecha *Centropomus undecimalis*. Boletim do Instituto de Pesca.

Resumos publicados em Anais de Congresso:

- SOLIGO, T.A.; FERRAZ, E. M.; SOUZA, R. M.; CERQUEIRA, V. R.; TSUZUKI, M. Y. Reprodução induzida do robalo flecha *Centropomus undecimalis* no litoral de Santa Catarina. In: Aquaciência 2006, 2006, Resumos...Bento Gonçalves, CD-ROM, 2006.
- SOLIGO, T.A.; FERRAZ, E. M.; SOUZA, R. M.; SAYÃO, A. C. A., DINIZ, I. DA S.; ÂNGELO, A. O.; CERQUEIRA, V. R.; TSUZUKI, M. Y. Primeiros resultados obtidos na larvicultura do robalo flecha *Centropomus undecimalis*. In: Aquaciência 2006, 2006, Resumos...Bento Gonçalves, CD-ROM, 2006.
- SOLIGO, T.A.; SOUZA, R. M.; FERRAZ, E. M.; RIBEIRO, F. F.; CERQUEIRA, V. R.; TSUZUKI, M. Y. Efeito de diferentes alimentos no desmame de juvenis de robalo flecha *Centropomus undecimalis*. In: Aquaciência 2006, 2006, Resumos...Bento Gonçalves, CD-ROM, 2006.
- FERRAZ, E. M.; SOLIGO, T. AUGUSTO; SOUZA, R. M.; HIRATSUKA, K. P.; RIBEIRO, F. F.; SANTOS, J. DOS, TSUZUKI, M. Y.; CERQUEIRA, V. R. Adaptação de reprodutores do robalo flecha para um sistema com controle de temperatura e simulação do fotoperíodo natural. In: Encontro Brasileiro de Ictiologia (EBI), 17, 2007, Resumos...Itajaí, p.56, 2007.
- FERRAZ, E.M.; TSUZUKI, M. Y.; CERQUEIRA, V. R. Indução da maturação sexual do robalo flecha *Centropomus undecimalis* em cativeiro. In: Aquaciência 2008, 2008, Resumos...Maringá, CD-ROM, 2008.
- CARVALHO, G. C. S., BRANDÃO, B. B., FERRAZ, E. M., TSUZUKI, M. Y.; CERQUEIRA, V. R. Diferentes temperaturas influenciando o crescimento e a sobrevivência de alevinos do robalo-peva *Centropomus parallelus*. In: Aquaciência 2008, 2008, Resumos...Maringá, CD-ROM, 2008.
- BARROSO, M. V.; FERRAZ, E. M.; BRANDÃO, B. B.; CERQUEIRA, V. R, TSUZUKI, M. Y., ANDREATTA, E. R. Avaliação da utilização de adultos selvagens do robalo-flecha *Centropomus undecimalis* para indução hormonal de desova durante o período reprodutivo. In: Aquaciência 2008, 2008, Resumos...Maringá, CD-ROM, 2008.



## RESUMO

Experimento de maturação com 54 reprodutores do robalo-flecha *Centropomus undecimalis* sobre diferentes regimes térmicos no verão 2006/2007 mostrou incremento de peso diário de 2,23 (g) e aumento de 39 mm em comprimento em 270 dias. Foi constatada evidências da maturação gonadal de 85,2% dos reprodutores identificados como machos, sendo observados volume de sêmen variando de 10 – 400  $\mu$ L e picos em janeiro e março de 2007. Uma única fêmea identificada no período teve ovócitos menores que 50  $\mu$ m. No verão 2007/2008, estes reprodutores após implantes com os hormônios 17  $\alpha$  - metiltestosterona e LHRHa, mostraram evidências da maturação gonadal para 96,0 % (machos), os maiores volumes de sêmen ocorreram no mês de março, um mês após aplicação hormonal. Mais uma fêmea foi identificada e os ovócitos ficaram ao redor de 60  $\mu$ m. No verão 2008/2009, uma das fêmeas identificada nos verões anteriores após aplicação de múltiplas doses do hormônio HCG, mostrou alguns ovócitos vitelogênicos com diâmetro de 150  $\mu$ m. Também no período, protocolo de múltiplas doses com FSH + HCG, não melhoraram a maturação para os reprodutores masculinos. Em outro ensaio, 540 alevinos do robalo-peva *Centropomus parallelus* foram mantidos em diferentes temperaturas (20,25 e 30°C), por quatro meses, para avaliação do crescimento e da influência sobre a proporção sexual. Verificou-se que peso (g) dos animais foi superior ao final do período para 30°C e não foram verificados sinais de mudança na proporção sexual, indicada pela predominância de machos nos três tratamentos, após localização das gônadas através de cortes histológicos.

Palavras-chave: *C.undecimalis*, *C. parallelus*, maturação, temperatura, 17- $\alpha$  metiltestosterona, HCG, FSH, proporção sexual



## ABSTRACT

Experiment of maturation with 54 broodstocks of common snook *Centropomus undecimalis* for different regimes thermal in summer 2006/2007 showed to increment of daily weight of 2,23 (g) and increase of 39 mm in length in 270 days. Evidences of the gonadal maturation of 85,2% of the identified broodstock as male were confirmed, being observed volume of semen varying of 10 - 400  $\mu$ L and peaks were in January and March of 2007. An only female identified in the period had oocytes lesser that 50  $\mu$ m. In summer 2007/2008, these broodstocks after implantations with hormones  $17\alpha$  methyltestosterone and LHRHa, had shown evidences of the gonadal maturation for 96,0% (male), the biggest volumes of semen had occurred in the March month, one month after hormonal application. One more female it was identified and the oocytes had been around of 60  $\mu$ m. In summer 2008/2009, one of the females identified in the previous summers after application of multiple doses of hormone HCG, showed some vitellogenic oocytes with diameter of 150  $\mu$ m. Also in the period, protocols of multiple doses with FSH + HCG, had not improved the maturation for the male broodstock. In another assay, 540 fry of fat snook *Centropomus parallelus* had been read in different temperatures (20, 25 and 30°C), for four months, for evaluation of the growth and the influence on the sexual ratio. It was verified that weight (g) of the animals was better to the end of the period for 30°C and signals of change in the sexual ratio had not been verified, indicated for the predominance of males in the three treatments, after localization of the gonads through histological section.

Key words: *C. undecimalis*, *C. parallelus*, maturation, temperature,  $17\alpha$  methyltestosterone, HCG, FSH, sex ration.





## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

### Introdução Geral

Figura 1. Robalo-flecha, <i>Centropomus undecimalis</i> .	25
Figura 2. Robalo-peva, <i>Centropomus parallelus</i> .	27
Figura 3. Representação dos fatores reprodutivos para as diferentes Latitudes.	30
Figura 4. Processo de maturação ovocitária para fêmea de salmão.	32

### CAPÍTULO II

Figura 1. Variações da temperatura para os dois regimes térmicos examinados.	51
Figura 2. Variáveis de crescimento para os reprodutores nos dois regimes térmicos examinados.	54
Figura 3. Porcentagem de machos do robalo-flecha, no verão 2006/2007.	55
Figura 4. Volume de sêmen do robalo-flecha, no verão 2006/2007.	56

### CAPÍTULO III

Figura 1. Variáveis de crescimento para reprodutores do robalo-flecha no verão 2007/2008.	74
Figura 2. Porcentagem de machos do robalo-flecha, no verão 2007/2008.	75
Figura 3. Machos espermiando do robalo-flecha, no verão 2007/2008.	76
Figura 4. Volume de sêmen do robalo-flecha, no verão 2007/2008.	77
Figura 5. Amostra coletada para fêmea do robalo-flecha identificada, no verão 2007/2008.	78

Figura 6. Amostra coletada para fêmea do robalo-flecha identificada, no verão 2008/2009. 79

Tabela 1. Parâmetros de crescimento no verão 2008/2009 79

#### CAPÍTULO IV

Tabela 1. Valores para parâmetros físico químico da água na primeira etapa do experimento. 96

Figuras 1 – Variáveis de crescimento para juvenis do robalo peva mantidos em diferentes temperaturas. 99

Figura 2 - Cortes histológicos de robalo-peva com 150 dias de vida. 102

Figura 3 – Número de alevinos de robalo-peva por classe de comprimento e por tratamento. 103

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LAPMAR	Laboratório de Piscicultura marinha
Anova	Análise de variância
dp	Desvio padrão
$\alpha = 0,05$	Nível de significância de 0,5 %
$\pm$	Mais ou menos
%	Partes por cem (percentagem)
h e hs	Hora e horas
%/h	Porcentagem por hora
‰	Partes por mil
$\mu\text{m}$	Micrômetros
mm	Milímetros
cm	Centímetros
m	Metro
$\mu\text{L}$	Micro litro
mL	Mililitro
L	Litro
L/ h	Litros por hora
mg	Miligramas
$\text{mg L}^{-1}$	Miligramas por litro
$\text{mg kg}^{-1}$	Miligramas por quilograma
$\mu\text{g kg}^{-1}$	Microgramas por quilo
$\text{UI kg}^{-1}$	Unidade Internacional por quilograma
$\text{kg m}^{-3}$	Quilograma por metro cúbico
g/dia	Gramas por dia
W	watts
Ln	Logaritmo neperiano
Lx	Lux (unidade de iluminação)
Fish Breed-M <sup>®</sup>	Ração para reprodutores de peixes marinhos
pH	potencial hidrogeniônico
AVID	American Veterinary Identification Devices
FNS	Fotoperíodo Natural Simulado

17 $\alpha$ MT	17 $\alpha$ metiltestosterona
LHRHa	Hormônio Liberador do hormônio Luteinizante análogo
FSH	Hormônio folículo estimulante (HFE)
T	Testosterona
11 KT	Hormônio 11 ketotestosterona
LH	Hormônio Luteinizante
Silastic MDX4-4210	BioMedical grade elastomer
DAE	Dias após a eclosão
DST	Determinação sexual dependente da temperatura

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I – Introdução Geral	23
1.1. Apresentação e problemática	23
1.2. Caracterização das espécies	24
1.2.1. Robalo-flecha, <i>Centropomus undecimalis</i>	24
1.2.1.1. Esforços para produção em cativeiro	26
1.2.2. Robalo-peva, <i>Centropomus parallelus</i>	26
1.2.2.1. Esforços para produção em cativeiro	27
1.3. A maturação gonadal em cativeiro	28
1.3.1. O efeito do fotoperíodo sobre a maturação gonadal	28
1.3.2. O efeito da temperatura sobre maturação gonadal	29
1.3.3. O efeito da nutrição sobre a maturação gonadal	30
1.3.4. O efeito da utilização de agentes hormonais sobre a maturação gonadal	31
1.4. Influência da temperatura sobre o crescimento e a diferenciação sexual	37
1.4.1. Influência da temperatura sobre o crescimento	37
1.4.2. Influência da temperatura sobre a diferenciação sexual	39
Ojetivos	44
2.1. Objetivo Geral	44
2.2. Objetivos específicos	44
CAPÍTULO II – Influência de diferentes regimes térmicos na maturação sexual de machos do robalo-flecha <i>Centropomus undecimalis</i> .	45
Resumo	46
Abstract	47
Introdução	48
Material e Métodos	49

Resultados	52
Discussão	56
Referências Bibliográficas	61
CAPÍTULO III – Indução da maturação gonadal do robalo-flecha <i>Centropomus undecimalis</i> em cativeiro: aplicação de diferentes protocolos de indução hormonal e diferentes indutores hormonais (17 $\alpha$ MT, LHRHa, HCG e FSH).	66
Resumo	67
Abstract	68
Introdução	69
Material e Métodos	69
Resultados	73
Discussão	80
Referências Bibliográficas	85
CAPÍTULO IV – Efeito da temperatura de cultivo sobre o crescimento e a proporção sexual para alevinos do robalo-peva <i>Centropomus parallelus</i> POEY, 1860.	89
Resumo	90
Abstract	92
Introdução	93
Material e Métodos	94
Resultados	97
Discussão	103
Referências Bibliográficas	109
CAPÍTULO V - Conclusões	114
5.1. Conclusões Gerais	114
5.2. Considerações Finais	115
6. Referências bibliográficas da introdução geral	119

## CAPÍTULO I – Introdução Geral

### 1.1 Apresentação e problemática

Um aspecto importante para o desenvolvimento da piscicultura marinha é a melhoria de programas de controle dos processos reprodutivos de peixes em cativeiro. A chave para o desenvolvimento das atuais e futuras tecnologias de desova é o entendimento do efeito do confinamento sobre o sistema endócrino dos peixes (ZOHAR; MYLONAS, 2001). Desta forma, a escolha de uma espécie para o cultivo depende de obter-se o maior número de informações biológicas relacionadas, principalmente, a características sexuais, como hábito alimentar, capacidade de maturar em cativeiro, e da necessidade ou não de intervenção hormonal para obtenção de gametas. Exemplo disso pode ser visto como no ocorrido na produção do baramundi, *Lates calcarifer*, na Tailândia. Até bem pouco tempo, as coletas de alevinos eram feitas diretamente do ambiente com capturas anuais chegando a 500.000 juvenis selvagens. Entretanto, a redução dos estoques no ambiente desta espécie de robalo, obrigou o desenvolvimento de técnicas de reprodução controlada em cativeiro e hoje são produzidos entre 100 e 150 milhões de juvenis em laboratório (ALVAREZ-LAJONCHÈRE, 2004; ALVAREZ-LAJONCHÈRE and TSUZUKI, 2008).

No Brasil, as espécies de robalos que mostram potencial para avanço da piscicultura marinha, dada a qualidade da carne, valor econômico e potencial para a pesca esportiva, são o robalo-peva (fat snook), *Centropomus parallelus* (POEY, 1860) e o robalo-flecha (common snook), *Centropomus undecimalis* (BLOCH, 1792).

Em relação ao robalo-peva, trabalhos no Brasil com a maturação em cativeiro, desova e larvicultura apresentaram resultados satisfatórios para o cultivo em larga escala (ALVAREZ-LAJONCHÈRE et al., 2002; CERQUEIRA, 2002, CERQUEIRA e TSUZUKI, 2009, CERQUEIRA, 2009). No entanto um dos maiores problemas para espécie no momento é o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem melhores condições para o crescimento (engorda) em cultivo.

Em relação ao robalo-flecha, a situação é bem mais complexa, visto que a espécie apresenta em sérios problemas para atingir maturação gonadal principalmente em relação às fêmeas (CERQUEIRA, 2009). Soligo et al. (2008) obtiveram reprodução induzida para a espécie pela primeira vez no Brasil, com desova obtida a partir de reprodutores femininos selvagens recém capturados e de reprodutores masculinos criados em cativeiro desde alevinos. Os gametas foram obtidos 36 hs

após aplicação do hormônio LHRHa, mas obteve-se limitada porcentagem de fertilização devido ao pequeno volume de sêmen coletado. Esta informação deixa claro que os animais mantidos no laboratório naquele momento, não apresentavam condições adequadas para maturação e conseqüentemente para a produção de sêmen de maneira adequada.

Sanchez-Zamora (2009) relata que estudos realizados no México levaram a formulação de algumas hipóteses para os fatores principais que podem levar à maturação da espécie em cativeiro: o fotoperíodo, o emprego de indutores hormonais, a qualidade da dieta e a salinidade, mas o importante seria definir aquele que realmente pode ser decisivo para a sua maturação. Além dos mencionados pelo autor, a temperatura é outro fator de grande importância que necessita ser investigado para a maturação reprodutiva da espécie.

Em resumo, a maturação plena para o robalo-flecha dependerá de uma revisão ampla do maior número possível de informações dos processos de manutenção dos animais em cativeiro.

## 1.2. Caracterização das espécies

### 1.2.1. Robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*.

Classificação da espécie *Centropomus undecimalis* (Figura 1), segundo Greenwood (1976)

Classe: Osteichthyes

Sub-classe: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Subordem: Percoidei

Família: Centropomidae

Gênero: *Centropomus*

Espécie: *Centropomus undecimalis* (BLOCH, 1792)





Figura 1. Robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*

O robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* é uma espécie diádroma, estenotérmica, eurialina, dependente do estuário, encontrada no Oceano Atlântico tropical e subtropical, da latitude 34° N até 25° S. Na Flórida, os manguezais da linha costeira são o seu principal habitat (TAYLOR et al., 1998). No hemisfério norte, maturação da fêmea e a desova começam em abril, quando o Índice gonado-somático (IGS) ultrapassa 1.0 e o diâmetro máximo do ovócito ultrapassa 470  $\mu\text{m}$ . Em relação ao tipo de ovário, evidências histológicas demonstram que o robalo tem desenvolvimento sincrônico em mais de dois grupos de ovócitos e desovam múltiplas vezes durante um período de 6 a 7 meses nos Estados Unidos (TAYLOR et al., 1998; PETERS et al., 1998; TAYLOR et al., 2000).

No caso dos machos, também no litoral da Flórida, o início da maturação ocorre em fevereiro e se estende até junho e a maturação plena ocorre de maio a outubro. Seu testículo é lobular e consiste de compartimentos germinativos que terminam na periferia do próprio testículo (GRIER; TAYLOR, 1998).

Pesquisas com a biologia da espécie estão sendo feitas desde a década de cinquenta nos Estados Unidos (VOLPE, 1959), principalmente com objetivo de repovoamento de estoques na Costa da Flórida. O autor relata que o maior desafio é a manutenção de um número aceitável de capturas, visto o grande interesse que a espécie desperta em relação à pesca esportiva naquele País. Extensas bases de dados foram desenvolvidas na costa do Atlântico e Golfo da Flórida, para entendimento do seu comportamento no ambiente em relação a dados biológicos como idade, crescimento, reprodução e longevidade, bem como variações de estoque em relação a captura (MULLER; TAYLOR, 2006).

No Brasil, relatos preliminares sobre o ciclo de atividade sexual de *C. undecimalis* foram descritos no nordeste por Costa et al. (1981). Ximenes-Carvalho (2006) infere que no sudeste: “a mudança de idade no robalo-flecha é mais influenciada pelo suprimento alimentar. Sendo temperatura/salinidade, reprodução ou alimentação os principais fatores causais, estes devem ocorrer para influenciar em bloco ou separadamente um dos segmentos principais da população, os estoques jovem e adulto”.

#### 1.2.1.1. Esforços para produção em cativeiro

Com a preocupação da redução dos estoques do robalo-flecha em ambiente natural, principalmente no litoral da Flórida, vários grupos de pesquisa nos Estados Unidos iniciaram trabalhos com reprodução da espécie, baseados principalmente na captura de reprodutores maduros (machos e fêmeas), induzidos a desova através do hormônio gonadotrófico coriônico humano (HCG) (AGER, 1976; EDWARDS; HENDERSON, 1985; ROBERTS et al., 1988; WALLACE et al., 1993; NEIDIG et al., 1999). Posteriormente com a utilização do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (SKAPURA et al., 1999).

Atualmente os esforços concentram-se na obtenção de ovos e larvas sem o emprego de hormônios. O conhecimento dos locais de captura, época e o próprio momento da liberação dos gametas, permitem a obtenção de machos espermiando fluentemente e fêmeas ovulando, não existindo necessidade da aplicação de indutores hormonais (YANES-ROCA, 2006). Este tipo de procedimento é efetivo, mas não necessariamente representa a solução para empreendimentos comerciais. Apesar de toda informação a respeito dos tratamentos hormonais utilizados acima, existem poucos detalhes sobre a maturação em cativeiro para a espécie.

No Brasil, Soligo et al. (2008) obtiveram reprodução induzida para a espécie pelo emprego do hormônio LHRHa e utilização de fêmeas selvagens. Trabalhos com a reprodução da espécie também estão sendo conduzidos no México através do emprego do hormônio LHRHa (SANCHEZ-ZAMORA, 2009).

#### 1.2.2. Robalo-peva, *Centropomus parallelus*

Classificação da espécie *Centropomus parallelus* (Figura 2), segundo Greenwood (1976)

Classe: Osteichthyes

Sub-classe: Actinopterygii  
Ordem: Perciformes  
Subordem: Percoidei  
Família: Centropomidae  
Gênero: *Centropomus*  
Espécies: *Centropomus parallelus* (POEY, 1860)



Figura 2. Robalo-peva, *Centropomus parallelus*

O robalo-peva, *Centropomus parallelus*, possui distribuição tipicamente tropical e subtropical, pela costa oriental americana, desde o sul da Flórida (EUA), passando pelo Golfo do México, até Florianópolis sul do Brasil (FRASER, 1978; RIVAS, 1986). São peixes bastante populares na costa do Brasil, principalmente pelo alto valor de mercado e qualidade refinada da carne (CERQUEIRA, 2002).

No Brasil, trabalhos com a biologia reprodutiva da espécie foram realizados na região sudeste no litoral do Rio de Janeiro (PATRONA, 1984; XIMENES-CARVALHO, 2006), no litoral de São Paulo (GODINHO et al., 1996) e na região nordeste na lagoa de Itaípe (Bahia) (SOUZA, 1988).

#### 1.2.2.1. Esforços para produção em cativeiro

A maturação e desova do robalo-peva foi obtida no Brasil de exemplares criados em laboratório e as técnicas desenvolvidas permitem sua larvicultura e produção em escala crescente em função de uma demanda (ALVAREZ-LAJONCHÈRE, 2002, ALVAREZ-LAJONCHÈRE; TSUZUKI, 2008, CERQUEIRA; TSUZUKI, 2009, CERQUEIRA, 2009). Na indução de desova foram testados a gonadotrofina coriônica humana (HCG) (CERQUEIRA 1995; GODINHO et al., 2000; CERQUEIRA et al., 2005) e o hormônio

liberador do hormônio luteinizante (LHRHa) através de injeção (FERRAZ et al., 2002; REIS; CERQUEIRA, 2003) e também com pellet de colesterol (FERRAZ et al., 2002).

Atualmente alguns experimentos estão concentrados em Santa Catarina baseados em trabalhos para produção em tanque rede (BARBUIO, 1999; NEVES, 2008), na utilização de dietas com níveis crescentes de proteína bruta (43, 47, 52 e 57% PB), onde a relação custo, manutenção da qualidade da água e crescimento indicou o melhor aproveitamento para a ração com 43% de proteína (GARCIA, 2001). No entanto, Souza (2009), verificou para juvenis da espécie com 4,8 g, que dietas com concentrações protéicas 375, 395, 416, 438, 473 e 490 g/Kg, aproximadamente isoenergéticas, e relação energia/proteína 8,61; 8,52; 8,21; 8,0; 7,49; 7,27 Mcal/Kg, aquela que apresentou o melhor desempenho (índices zootécnicos e econômicos) foi a de 490 g/Kg e 7,27 Mcal/Kg.

### 1.3. A maturação gonadal em cativeiro

O entendimento do processo de maturação gonadal e as formas para a sua regulação endócrina passam a ser decisivos quando se procura a adaptação de uma espécie para o cultivo em cativeiro. De acordo com Patiño e Sullivan (2002), a maturação gonadal em fêmeas (ovogênese) é o processo pelo qual as células germinativas primordiais (CGPs) tornam-se ovócitos prontos para serem fertilizados.

#### 1.3.1. O efeito do fotoperíodo sobre a maturação gonadal

Segundo Bromage et al. (2001), o fotoperíodo é o principal fator “aproximador” da maturação. Em muitos peixes de clima frio, estes se encontram num ritmo endógeno que por sua vez controlam a reprodução. Esta informação provavelmente é transmitida à linha central reprodutiva por mudanças diárias e sazonais na produção da melatonina, provavelmente, associada a temperatura, ao status nutritivo junto a outros fatores que atuam de maneira “permissiva” para permitir a sequência da maturação.

Muitos trabalhos relacionados ao controle reprodutivo hoje estão baseados na modificação do fotoperíodo de maneira a modular a resposta reprodutiva na época de maturação. Para Boeuf e le Bail (1999), a quantidade e qualidade da luz na água podem ser interpretadas pelos peixes parecendo claro que uma diferença mínima é necessária de modo que eles possam distinguir a luz em relação ao escuro. Os pontos adequados da intensidade da luz têm que ser alcançados e os projetos experimentais devem evitar iluminações inadequadas. A manipulação do

fotoperíodo é uma técnica bastante utilizada, podendo ser efetiva tanto para retardar como para adiantar o ciclo reprodutivo. Em espécies de clima frio, vários autores testaram sua manipulação e os resultados na maioria das vezes foram efetivos. Esta manipulação pode estar ou não associada ao controle da temperatura. Os ciclos fototermiais criados buscam adiantar, atrasar e sincronizar a maturação e desova para várias espécies de clima frio e temperado, como no caso de *Menidia beryllina* (HUBER; BENGTON 1999); common dentex, *Dentex dentex* (PAVLIDIS et al., 2001); Atlantic salmon, *Salmo salar* (TARANGER et al., 2003); black sea bass, *Centropristis striata* (HOWELL et al., 2003); haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (MARTIN-ROBICHAUD; BERLINSKY 2004); Atlantic cod, *Gadus morhua* (NORBERG et al., 2004).

Outra possibilidade interessante do controle do fotoperíodo tem sido bastante estudada através da exposição prolongada de luz (24 horas) de forma a retardar ou quebrar o ciclo reprodutivo, como mostrado para Atlantic cod, *Gadus morhua* (HANSEN et al., 2001; MEEREN e IVANNIKOV, 2006); haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (DAVIE et al., 2007); Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (FRANTZEN et al., 2004); Eurasian perch, *Perca fluviatilis* (MIGAUD et al., 2004; 2006); sea bass, *Dicentrarchus labrax* (RODRÍGUEZ et al., 2001; BAYARRI et al., 2004; FELIP et al., 2008).

### 1.3.2. O efeito da temperatura sobre a maturação gonadal

De acordo com Pankhurst e Porter (2003), os efeitos da temperatura na atividade reprodutiva são bem menos compreendidos que o do fotoperíodo. Diferentemente dos peixes de clima frio, a sequência de importância para os eventos reprodutivos para peixes tropicais, depende muito mais de mudanças na temperatura do que aqueles decorrentes da mudança no fotoperíodo (Figura 3). Poucos são os trabalhos encontrados para controle da temperatura e fotoperíodo para peixes marinhos de clima quente. Dumas et al. (2004) examinaram a influência para Pacific red snapper, *Lutjanus peru* e Shiota et al. (2003) avaliaram, principalmente, o efeito da elevação de temperatura para mudskipper, *Periophthalmus modestus*.

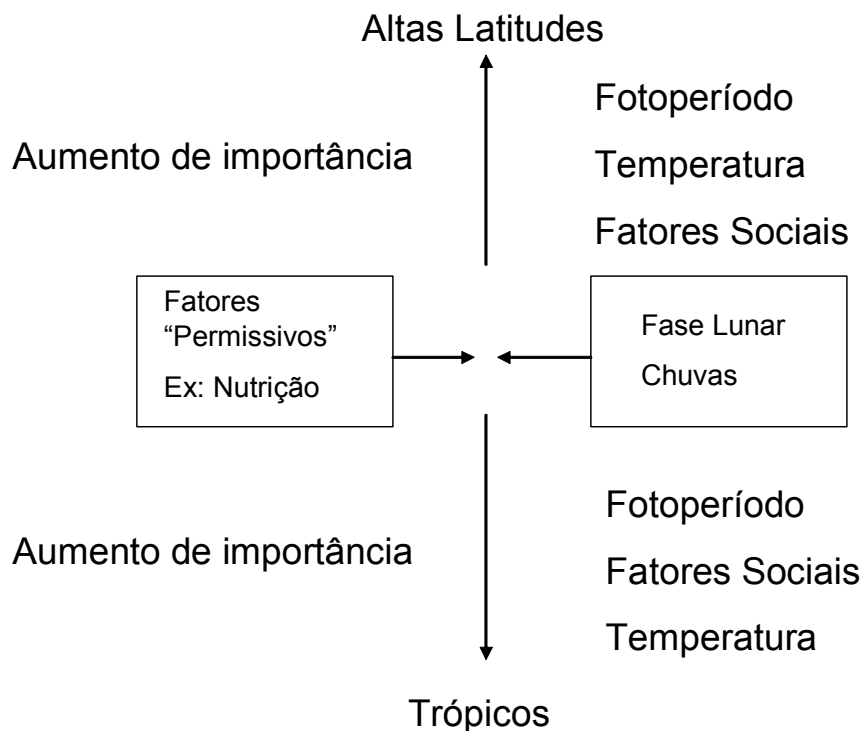


Figura 3. Representação esquemática da escala de importância em relação a ordem dos fatores reprodutivos para as diferentes Latitudes. Pankhurst e Porter (2003).

Desta maneira, a maioria dos fatores que regulam a maturação gonadal em teleósteos de clima frio e quente podem ser convenientemente controlados, desde que o conhecimento sobre as necessidades para a espécie em estudo sejam conhecidas. A intervenção humana passa a ser decisiva para obtenção de animais maduros em cativeiro, mas não necessariamente está assegurada.

### 1.3.3. O efeito da nutrição sobre a maturação gonadal

A condição nutricional é um pré-requisito para reprodutores em cativeiro. A formulação de alimentos está associada a um entendimento claro das exigências nutricionais do animal, e como isto pode vir a interferir no seu desempenho reprodutivo. O robalo é um predador visual, abate sua presa com voracidade e de uma única vez. Comumente, os animais recusam a alimentação, principalmente quando ocorre qualquer mudança no alimento do dia a dia. Desta maneira, a comida ofertada e sua frequência devem estar baseadas em dietas compactas, ricas em ácidos graxos e com boa atratividade. No México, Sanches et al. (2002) relatam sucesso na obtenção de exemplares maduros do robalo-flecha, alimentados com uma dieta à base de peixe congelado e suplementada com óleo de peixe. Já em Cuba,

também para a mesma espécie, Reyes et al. (2004) e Fraga et al. (2006) testaram rações úmidas com peixe, lula e adição de farinha de peixe, sendo observados bons resultados para o fator de condição quando uma frequência alimentar de três vezes na semana foi aplicada em comparação à alimentação diária. Sem dúvida, o início do ciclo reprodutivo, baseado na vitelogênese e espermiogênese, somente ocorrerá se uma dieta adequada for implementada.

Peixes marinhos geralmente acumulam grandes depósitos de lipídio durante a maturação sexual antes do desenvolvimento das gônadas; esta reserva de lipídio é subsequentemente usada como energia metabólica durante a migração e mobilizada pelas fêmeas no desenvolvimento dos ovócitos (MOURENTE et al. 2002). Para Tocher (2003), os ácidos graxos, não são apenas as principais fontes de energia metabólicas para crescimento dos ovócitos, eles são também a principal fonte de energia metabólica para a reprodução.

O correto balanço de ácidos graxos essenciais da série n-3, incluindo docosahexaenoico (22:6n-3; DHA), ácido eicosapentaenóico (20:5n-3; EPA) e o ácido araquidônico (20:4 n-6; AA), podem ser decisivos na formulação de dietas para reprodutores. Os peixes dependem de alimentos com equilíbrio destes compostos, sendo importante em processos fisiológicos e de manutenção. Dietas experimentais formuladas com variação nos componentes protéicos e lipídicos foram testadas para gilthead sea bream, *Sparus aurata* (FERNÁNDEZ-PALACIOS et al., 1995; 1997; ALMANSA et al., 1999), sea bass, *Dicentrarchus labrax* (BELL et al., 1997; BRUCE et al., 1999; ASTURIANO et al., 2001) e para o Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (MAZORRA et al., 2003).

Izquierdo et al. (2001) em revisão sobre o efeito da nutrição no desempenho reprodutivo de peixes sintetizam, os esforços na obtenção de dietas adequadas em exigências nutricionais, ressaltando que bons resultados podem estar associados ao fornecimento de alimentos frescos marinhos em alternância com dietas comerciais e a importância de vitaminas específicas, como C e E, na alimentação de reprodutores.

#### 1.3.4. O efeito da utilização de agentes hormonais sobre a maturação gonadal

Segundo Zohar e Mylonas (2001) indiferente de um bom estado nutricional, a grande maioria dos peixes em confinamento ficam presos a estágios avançados de vitelogênese, seguidos pela atresia folicular, e machos apresentam quantidades limitadas de sêmen e de baixa qualidade. Segundo os autores, animais em cativeiro no período

reprodutivo não encontram todos os gatilhos ambientais necessários (migração reprodutiva e áreas de desova adequada) de maneira que ocorra a maturação final dos ovócitos, ovulação e consequente processo de desova, apresentando disfunções reprodutivas similarmente a muitos animais silvestres mantidos em cativeiro. Para os autores ainda problemas reprodutivos são normalmente mais sérios em reprodutores femininos, nos quais, podem falhar por completo para alcançar a vitelogênese e no caso dos reprodutores masculinos estão mais associados à limitada produção de sêmen ou a baixa qualidade.

Como a maioria dos reprodutores de peixe mantidos em cativeiro consegue chegar a vitelogênese, através dos já mencionados fatores de aclimação, o que acaba sendo limitação é a aquisição da maturação final dos ovócitos. Podemos entender o processo de maneira simplificada como o proposto por Yaron e Sivan (2006) no esquema adaptado na Figura 4.

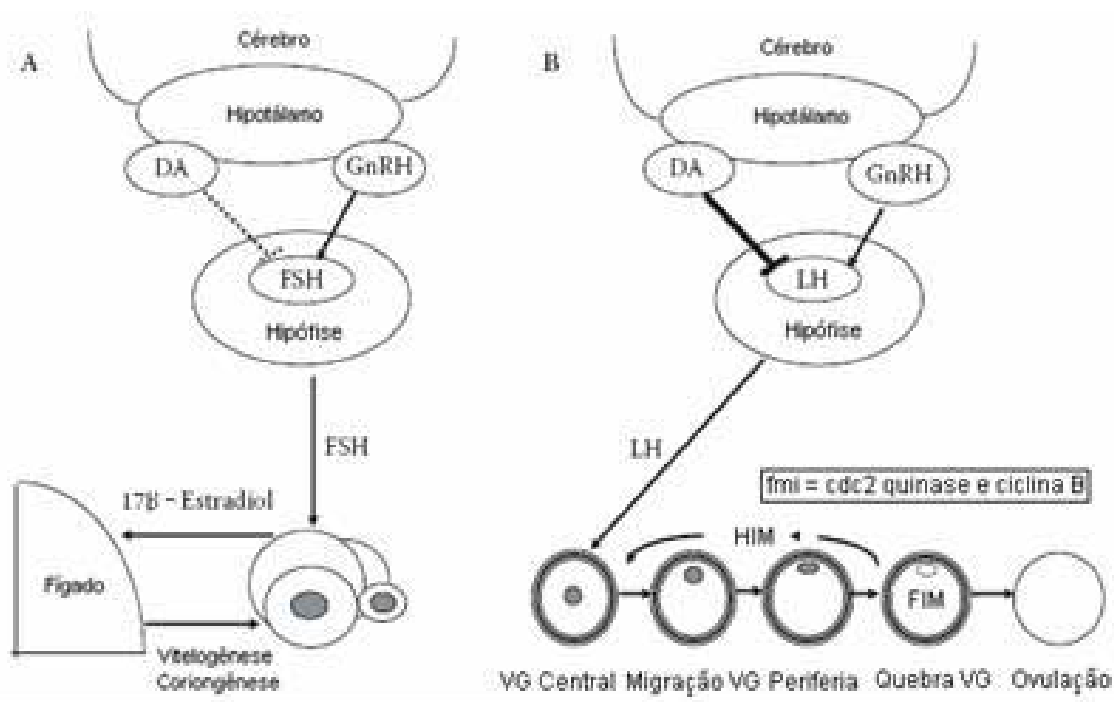


Figura 4. Exemplo para fêmea de salmão, após a estimulação ambiental, (A) o cérebro manda informação para hipotálamo para produção e liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) que por sua vez estimula produção do hormônio folículo estimulante (FSH) e reduzido pela dopamina (DA), este por sua vez promove a secreção de  $17\beta$  - estradiol proveniente do folículo ovariano. O  $17\beta$  - estradiol induz a produção de vitelogenina e coriongenina pelo fígado do animal. (B) Estas são transportadas via corrente sanguínea e utilizadas pelo folículo sobre regulação do FSH e incorporadas no



ovócito para formação dos grânulos de vitelo e o córion. Na sequência, GnRH estimula a liberação do hormônio luteinizante (LH). O folículo do ovário vitelogênico responde secretando o hormônio indutor da maturação do ovócito (HIM). Esta progesterona estimula de maneira paracrina, a síntese de ciclina B no ovócito, que junto com enzima de quebra cdc2, formam o fator indutor da maturação (FIM). A retomada da meiose é refletida morfológicamente pela migração da vesícula germinativa e sua quebra na periferia da célula. Adaptado de (YARON e SIVAN, 2006).

Esta mesma informação é bastante limitada no caso da espermatogênese. Schulz et al. (2001) comentam que as gonadotrofinas hipofisárias, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) regulam a esteroidogênese e a espermatogênese pela ativação de receptores das células de Leydig (receptor LH) e pelas células de Sertoli (receptor de FSH), respectivamente. Schulz e Miura (2002) sugerem que o FSH é o mais importante hormônio que regula a esteroidogênese de peixes, sendo que o aumento de FSH pode ser suficiente para iniciar a espermatogênese pela ativação das células de Sertoli e a produção de 11-Ketotestosterona (11KT).

Outro importante andrógeno é a testosterona (T) e parece existir um correto balanço na proporção de T e 11KT produzidas. O feedback dos andrógenos sobre gonadotróforos apresenta um complexo padrão. Andrógenos aromatizáveis/ estrógenos estimulam a síntese do LH em peixes juvenis; este efeito desaparece durante a maturação. Este feedback positivo na síntese do LH é balanceado por um feedback negativo na liberação do LH, que pode envolver os neurônios de GnRH. Em muitas espécies, células espermáticas não podem fertilizar óvulos sem passarem pelo processo de capacitação, na qual inclui a aquisição da motilidade. As progesteronas que são produzidas sobre influência do surgimento do LH exercem um importante papel neste contexto, no qual envolve o controle da composição do plasma seminal.

Na maioria das espécies em cativeiro, é possível interferir no ciclo reprodutivo, fazendo com que seja retomada a meiose no caso das fêmeas, principalmente para obtenção da maturação final de ovócitos e ovulação, e nos machos, por um aumento do volume espermático e capacitação dos espermatozoides. Considerando-se o eixo hipotálamo-hipófise-gônada, é possível a intervenção imaginando a substituição do GnRH produzido e liberado pelo hipotálamo, por formas sintéticas bem mais potentes. Segundo Zohar (apud BROMAGE e ROBERTS, 1995), em peixes marinhos, a ação da dopamina DA, na degradação do GnRH em circulação é pequena e conseqüentemente o emprego de GnRH é

bastante efetivo na liberação das gonadotrofinas. Aizen et al. (2005), no entanto, observaram melhores resultados para ovulação e desova da tainha (*Mugil cephalus*) com a aplicação do hormônio GnRH quando associado ao agente anti-dopaminérgico “domperidona”, quando comparado à aplicação apenas do GnRH. Estratégia diferente é obtida pela aplicação de gonadotrofinas exógenas, como no caso de peixes de água doce, no qual o principal indutor continua a ser o extrato hipofisário de carpa, pelo custo e efetividade. Outro hormônio gonadotrófico bastante utilizado é o hormônio gonadotrófico coriônico humano (HCG), que promove, de uma maneira geral, bons resultados de maturação final, ovulação e desova para peixes de água doce e salgada, entretanto existe controvérsia em relação ao seu uso por se tratar de um hormônio de origem humana (ZOHAR; MYLONAS, 2001).

O uso da maioria destes indutores hormonais é baseado na aplicação única ou múltipla através de solução salina, no entanto, desde a década de oitenta, diferentes sistemas para prolongar a liberação de hormônios estão sendo utilizados para peixes com intuito de aumentar o período de liberação da droga, visando resultados superiores. Skapura et al. (1999) comentam o emprego de uma destas tecnologias na indução de desova para o robalo-flecha, *C. undecimalis* com aplicação de diferentes tipos do GnRH (salmãoGnRH, seabreamGnRH e frango II GnRH). No Brasil, Ferraz et al. (2002) foram os primeiros a utilizar implante de colesterol com GnRH em exemplares do robalo-peva, *C. parallelus*, obtendo desovas sequenciais com intervalo de 24 horas, indicando a liberação prolongada do GnRH na circulação para a espécie.

Novas tecnologias estão sendo aprimoradas e atualmente baseiam-se na aplicação de vários tipos de polímeros junto a droga a que se pretende estender a liberação (MYLONAS e ZOHAR, 2001). Uma destas é a utilização do Silastic<sup>®</sup> MDX4-4210 Biomedical Grade Elastomer (Dow Corning) destinado a liberação gradual de diversos tipos de drogas. Hernandez-Rauda e Aldegunde (2002) utilizaram implantes silásticos de MDX4 com 17  $\alpha$  metiltestosterona (MT) para machos juvenis de truta, *Oncorhynchus mykiss*, verificando níveis elevados de testosterona (T) no plasma e níveis reduzidos de dopamina na hipófise, 20 dias após o início do tratamento. Guang-Li, Xiao-Chun, Hao-Ran (2006) descrevem o uso de MDX4 com 17  $\alpha$  metiltestosterona (MT) para reversão sexual prolongada para garoupa, *Epinephelus akaara*, visto a dificuldade em se obter machos da espécie em condições de cativeiro. Estas tecnologias, no entanto, em sua grande maioria, visam obter maturação final em peixes mantidos em cativeiro.

Experimentos estão sendo realizados para várias espécies de peixes baseados em sistemas de liberação prolongada, associando o uso de GnRH com esteróides sexuais como a 17  $\alpha$  metiltestosterona (MT), testosterona (T) e 11 Ketotestosterona (KT).

Avanço da maturação foi observado para o milk fish, *Chanos chanos* (LEE et al., 1986a; LEE et al., 1986b, TAMARU et al., 1988), para fêmeas de tainha, *Mugil cephalus* (TAMARU et al., 1989). McGuren et al. (2005) descrevem a obtenção de bons resultados no avanço da maturação de fêmeas do barramundi, *Lates calcarifer*, após aplicação de pellet com preparação comercial do hormônio LHRHa (Reproboost<sup>TM</sup>) e implantes com 17 $\alpha$ -metiltestosterona. Segundo Zanuy et al. (1999), os esteróides sexuais podem atuar sobre a síntese e a liberação de GnRH, visto que a testosterona tem uma grande influência sobre o controle da secreção de gonadotrofina (GtH), particularmente no final do ciclo reprodutivo. A testosterona pode estimular a secreção de GtH in vivo, bem como aumentar o conteúdo de GnRH no cérebro e hipófise, e a concentração de GtH-II (LH) na hipófise. Estes estudos sugerem um papel positivo da testosterona no controle de GtH-II (LH) e possivelmente na síntese e liberação de GnRH. Os autores verificaram para machos do sea bass, *Dicentrarchus labrax*, um aumento de aproximadamente 10 vezes dos níveis no plasma de GtH após 15 dias do implante de testosterona (T) em relação aos animais do grupo controle. Holland et al. (2002), trabalhando com striped bass, *Morone saxatilis* mostraram que tratamentos com várias combinações de veículos de ação prolongada com T, GnRHa e pimizida não conduziram um aumento na incidência de machos com início de maturação, mas estimulou a espermatogênese em peixes juvenis. Assim, T pode exercer um papel importante durante a puberdade, potencializando os efeitos de GnRH na síntese do LH. Em juvenis e machos no início da maturação, os níveis de LH do plasma puderam ser aumentados somente por doses elevadas de GnRHa (em combinação com T). A adição de pimizida não afetou o aumento LH na hipófise. No entanto, Vidal et al. (2004) verificaram para enguia européia, *Anguilla anguilla*, em protocolo usado previamente no striped bass, que somente o tratamento triplo com T, GnRHa, e pimizida pode provocar aumentos acentuados na síntese de LH e assim conduzir aumento dos níveis de vitelogenina do plasma. Assim, na enguia pré-puberdade, a remoção da inibição da dopamina (DA) é exigida provocando a síntese de GnRH e a liberação do LH e assim iniciando o desenvolvimento ovariano. Segundo os autores, esta seria a primeira demonstração de um papel essencial para DA no controle do LH e da puberdade em um teleosteo juvenil.

A enguia japonesa, *Anguilla japonica* sob circunstâncias de cultivo, têm ovário imaturo que contém somente ovócitos pré-vitelogênicos (YAMAMOTO; YAMAUCHI, 1974) e testículos imaturos que contém somente espermatogônias pré-mitóticas no macho (MIURA et al., 1991), devido a uma deficiência na síntese de gonadotrofinas (GtH) (DUFOR et al., 1983, 1988). A ativação da síntese de GtH nesta enguia pode ser induzida somente pelo tratamento com fatores exógenos da hipófise (NAGAE; ADACHI; YAMAUCHI, 1997). Estes autores fizeram testes e clonagens de subunidades de GtH e comentam que aumento só ocorre com estímulo hormonal de extrato de hipófise de salmão. Ohta et al. (1997) descrevem um protocolo para obtenção de fêmeas maduras para esta espécie, após aplicações semanais (9–12 semanas) de extrato de hipófise de carpa SPE (20 mg por peixe por semana). Os autores descrevem também um protocolo de aplicação para machos, em que injeções repetidas de gonadotropina coriônica humana (HCG) em uma concentração de 1 IU.g<sup>-1</sup> peso corpóreo por semana induziram a espermatogênese, e espermição, e a aquisição de motilidade do esperma para animais em cultivo. Sato et al. (1997), comparando duas tecnologia de liberação prolongada, uma baseada em emulsão usando gelatina liofilizada (LG), com uma outra tecnologia de emulsão, após um total de 10 aplicações semanais das emulsões contendo GtH (extrato de hipófise de salmão) (2 µg.g<sup>-1</sup> peso corpóreo), verificaram que a nova tecnologia (LG) apresentou melhores resultados no índice gonadosomático, e maiores níveis hormonais de estradiol 17β (E2) e testosterona (T).

Pedersen (2003) descreve um protocolo de maturação para enguia européia, *A. anguilla* similar ao utilizado por Ohta et al (1997) para maturação da enguia japonesa, *A. japonica*. O autor sugere um protocolo de até 24 semanas de aplicação de injeções de extrato de hipófise de salmão (SPE), em alguns protocolos intercalado a aplicação de HCG. O autor descreve vários resultados de desenvolvimento de ovócitos durante o período experimental. No caso de machos, dose padrão 200 IU por peixe, foi aplicado semanalmente, e espermição foi observada de 4 a 9 semanas depois de iniciado o tratamento com HCG. Mudanças em relação ao peso corpóreo foram utilizadas como critério da evolução da maturação ao longo das semanas. Para Pedersen (2004), as dificuldades na indução de maturação sexual em fêmeas de enguia européia, *A. anguilla* podem estar associadas a baixa qualidade dos ovócitos dos sistema de cultivo artificial, ou por deficiências nos procedimentos de uso de gonadotrofinas que não são do próprio animal, ou talvez ainda porque o estado nutricional antes de maturação é

subótimo nos criadores da região. Mar et al. (2006) verificaram a existência de possíveis ferormônios liberados na água por fêmeas de enguia européia, *A. anguilla* após tratamento hormonal prolongado para maturação que estimularam machos imaturos não induzidos a alcançar início de espermatogênese.

De qualquer maneira, fica claro que na maioria das espécies cultivadas em cativeiro, o principal bloqueio está relacionado ao último estímulo para maturação final dos ovócitos, até a expulsão do óvulo pelo folículo e, no caso de machos, da aquisição de capacitação e aumento de volume de sêmen e plasma seminal. Em casos como da enguia, este contexto é anterior, e desta maneira o ciclo reprodutivo está quebrado em outro estágio de desenvolvimento, daí a necessidade do emprego de grandes quantidades de hormônio de diferentes formas. O desenvolvimento de protocolos hormonais complexos como o uso de várias induções hormonais ou do uso de sistemas de ação prolongada, associados ou não a esteróides sexuais, pode em alguns casos ser a única via possível para o término da vitelogênese e espermiogênese em animais com este tipo de bloqueio.

#### 1.4. Influência da temperatura sobre o crescimento e a diferenciação sexual

##### 1.4.1. Influência da temperatura sobre o crescimento

A melhoria da produção aquícola depende muitas vezes do desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a rentabilidade, que podem ser obtidas pelo emprego de pequenas mudanças na escala produtiva. O ganho de peso de uma determinada espécie pode ser aumentado, com o emprego de rações que sejam melhor aproveitadas pelo animal e muitas vezes os animais tem seu ótimo, em termos de alimentação, sobre condições favoráveis de temperatura. Segundo Baldisseroto (2002), “para se verificar a tolerância, resistência ou preferência de uma espécie, alguns exemplares poderiam ser expostos a um aumento ou diminuição constante da temperatura”. Espécies de peixes adaptadas ao cultivo podem ser bastante sensíveis a regiões climáticas muito diferente da sua região de origem. Zimmermann e Fitzsimmons (2004) comentam que o rigoroso inverno do sul do Brasil, frequentemente, ocasiona mortalidade de tilápias, tanto de reprodutores como de alevinos, levando a uma diminuição da produção. Ainda, segundo os autores as baixas temperaturas inibem o consumo de alimentos. Desta maneira, fica claro que a temperatura tem grande importância na taxa de crescimento para estes animais.

Para Baldisseroto (2002), diferenças de crescimento entre indivíduos de um mesmo lote podem estar associadas a vários fatores como: diferenças no tamanho, no comportamento, na densidade de estocagem, no caso do envolvimento de hormônios (hormônio de crescimento GH) e dos fatores ambientais (temperatura, salinidade, pH, dureza, resíduos nitrogenados, fotoperíodo e intensidade de luz, disponibilidade de oxigênio, turbidez e turbulência). Para Sabatés et al. (2006), a temperatura desempenha papel fundamental na distribuição de espécies por sua importância, na reprodução, recrutamento, fisiologia e crescimento. Além disso, ajuda na disponibilização de alimentos para peixes. Os autores comentam que muitas espécies podem estar migrando para regiões diferentes em busca do conforto térmico e imagina-se que o aquecimento global trará fortes influências sobre toda ictiofauna, afetando a distribuição ao longo do globo.

Imaginando-se a larvicultura para peixes marinhos como uma unidade mais estável do que o ambiente natural, a produção de larvas e alevinos pode ser realizada com um maior controle, de maneira que oscilações de temperatura possam ser minimizadas. Considerando um maior crescimento, meta para o desenvolvimento do cultivo, experimentos que busquem determinar os efeitos da temperatura sobre o crescimento estão sendo realizados para várias espécies. Burel et al. (1996) verificaram que na França, o crescimento de juvenis do linguado, *Scophthalmus maximus* (35-50 g) foi superior entre 17 a 20 °C, sendo observado que em águas mais frias (8 a 11°C), a taxa de crescimento foi marcadamente reduzida. Os autores observaram ainda que a ingestão de alimentos é regulada, parcialmente, pela velocidade da passagem através do intestino, que é afetada pela temperatura. Na prática, a fim de limitar o depósito de gordura, os autores recomendam a diminuição do índice de gordura do alimento durante períodos do inverno. Resultados semelhantes foram observados por Imsland et al. (1996) na Noruega para o juvenil turbot (25-75 g) exposto a temperaturas entre 16 e 19 °C. Os autores relacionam ainda que variações ontogenéticas exibidas pelo turbot em situação ótima de temperatura podem explicar em parte diferenças na distribuição espacial dos juvenis e adultos em águas no oceano. Imsland et. al. (2001) verificaram que combinações de temperatura e salinidade melhoraram o crescimento, consumo de alimento e a eficiência da conversão alimentar do turbot em salinidade de 15‰ e temperaturas mais altas. Imsland et al. (2007) correlacionam novamente temperatura e salinidade em relação a níveis do plasma de insulina semelhante ao fator de crescimento (IGF-I) para juvenis de turbot (14 g), sendo que os níveis no plasma IGF-I aumentaram com as

temperaturas crescentes que alcançaram um platô em torno de 18 °C e salinidade 15‰.

Gabillard et al. (2003) para truta, *Oncorhynchus mykiss* na França procuraram identificar se as variações do crescimento do embrião em resposta à temperatura (8 e 12°C) poderiam estar associadas com as modificações na expressão de gene do sistema do hormônio de crescimento GH/IGF. Os autores não encontraram uma relação entre aumento de GH e o crescimento do embrião em função da temperatura, mas sugerem que IGF-2 pode atuar como o fator predominante de crescimento durante o desenvolvimento embrionário para peixes, como proposto para mamíferos.

No Brasil, Okamoto et al. (2006) verificaram a influência de três diferentes temperaturas sobre o crescimento da tainha, *Mugil platanus* para animais com peso inicial de (0,87g ± 0,25), verificou-se um crescimento superior após um mês de tratamento para os animais mantidos na temperatura de 30°C. López-Albors et al. (2003), trabalhando com o sea bass, *Dicentrarchus labrax* na Espanha sugerem que variações térmicas durante as fases do desenvolvimento larval e pós-larval podem determinar características do crescimento para teleósteos. Experimento com duas temperaturas (15,0 e 17.7°C) mostraram que a média do diâmetro das fibras de músculo branco, assim como o comprimento do corpo foi maior no grupo com temperatura mais alta. López-Albors et al. (2008) comentam, ainda, em relação ao sea bass, que pequenos aumentos da temperatura, durante os meses do período larval, têm a capacidade modificar as taxas de hiperplasia e de hipertrofia das fibras do músculo branco, ocorrendo diferenças significativas no músculo para animais quando chegam ao tamanho comercial.

#### 1.4.2. Influência da temperatura sobre a diferenciação sexual

Segundo Devlin e Nagahama (2002), “a determinação dos sexos em peixes é um processo flexível. Deste modo, o destino de células somáticas e germinativas dentro do primórdio da gônada podem ser afetados, através de ações genéticas, ambientais, comportamentais e através de fatores fisiológicos”.

Segundo Hazel (1993), “com exceção dos peixes endotérmicos, todos os membros das classes de vertebrados, Agnatha, Chondrichthyes e Osteichthyes são ectotérmicos, com sua temperatura corpórea determinada pela variação de temperatura do ambiente”. A consequência disto é imaginar que todo o desenvolvimento embrionário, larval e até a fase de alevinos a juvenil transcorre sobre variados regimes

de temperatura, sujeitos a influências de corrente, marés e vários fenômenos ocasionados por variações climáticas severas. Devlin e Nagahama (2002) em seu trabalho sobre a determinação sexual e diferenciação sexual em peixes, cometam que nenhum gene é conhecido com certeza por estar envolvido no processo de determinação sexual inicial em peixe. Yamamoto (1969 apud PIFERRER, 2001) propôs que a diferenciação sexual em peixes pode seguir dois caminhos. No primeiro caso, a gônada primordial pode se diferenciar diretamente ou em ovário ou em testículo. No segundo caso, todos os animais, primeiro se diferenciam apresentando uma gônada semelhante ao ovário, depois aproximadamente metade destes peixes vão apresentar ovários e, metade, testículos. Um dos critérios importantes, então, para que possamos estabelecer técnicas para a reversão sexual de uma espécie, está relacionado ao período em que o animal encontra-se em processo de diferenciação sexual. Blázquez et al. (2001) sugerem que as principais variáveis para o sucesso da reversão sexual através do emprego de esteróides sexuais são: (1) o tempo do início da exposição em relação ao desenvolvimento gonadal, (2) a duração da exposição e (3) a dose e o tipo de esteróide usado. Da mesma forma que a utilização de esteróides, é possível se imaginar que os critérios para aplicação da temperatura estejam em acordo com esta proposta. Dessa maneira, o momento lábil da diferenciação sexual, período este em que o animal ainda não se diferenciou entre um sexo e outro, deve ser estabelecido, se possível, como um critério para aplicação dos tratamentos (BLÁZQUES et al. 2001; PIFERRER 2001).

O sea bass, *Dicentrarchus labrax* em cultivo intensivo apresenta proporção sexual muito favorável a produção de machos (CARRILLO et al., 1995, BLÁZQUEZ et al., 1998), dos quais uma grande proporção se desenvolvem sexualmente muito precocemente. Isto não é desejável no cultivo da espécie, pois os machos exibem um crescimento somático reduzido, resultando em peso corpóreo de 18-40% menor para animais com três anos de idade (CARRILLO et al., 1995). Sendo assim, populações 100% fêmeas muitas vezes são desejadas no cultivo desta espécie.

Considerando o modelo acima, no caso dos robalos *C. parallelus* e *C. undecimalis* é possível verificar um problema similar ao ocorrido para sea bass. Segundo Taylor, Grier; Whittington (1998), o desenvolvimento gonadal em machos do robalo-flecha é anterior ao da fêmea indicado pelo começo precoce da maturação. A consequência natural deste fenômeno é a redução do tamanho de machos em relação a fêmeas com a mesma idade. No entanto, o caso dos robalos é bem mais



complexo. Segundo Taylor et al. (2000), o robalo-flecha *C. undecimalis* é um hermafrodita protândrico, matura primeiro como macho e por reversão sexual, suas gônadas são revertidas para ovários, passando a fêmeas funcionais, dependendo da idade e tamanho. Em relação ao robalo-peva, em condições de cultivo, são observados cerca de 90% ou mais de machos em um mesmo lote, bem como, animais espermiando do primeiro para o segundo ano de vida (FERRAZ e CERQUEIRA<sup>1</sup>). Sobre este ponto vista, imaginando que fêmeas de robalos apresentem um crescimento maior em relação ao dos machos, como o proposto para o caso do sea bass, mudanças na proporção sexual para animais de cultivo passam a ser bastante desejadas.

Atualmente, muitas pesquisas desenvolvidas para o sea bass europeu, *D. labrax* visam o desenvolvimento de técnicas que permitam o controle sobre a proporção sexual. Experimentos sobre a influência da temperatura sobre a diferenciação sexual e sua consequente mudança da proporção sexual foram realizados por Blázquez et al. (1998). O sea bass exposto a duas temperaturas (25 e 15°C) conduziram a produção de lotes 100% machos, após um período de 80 dias. Os autores observaram que o período ontogenético (57 a 137 dias após a eclosão) utilizado parece ser um período termo-sensível e coincide com o período de sensibilidade máxima à ação de esteróides sexual exógeno (andrógenos ou hormônios estrogênicos). Pavlidis et al. (2000) aclimataram lotes da espécie com 30 horas após a fertilização, em três temperaturas diferentes (13, 15 e 20 °C); quando atingiram comprimento entre 17,0-18,0 mm, todos os três grupos formados foram transferidos para sistemas de cultivo com temperatura e fotoperíodo natural. Uma proporção significativa de fêmeas foram encontradas nos grupos expostos a temperatura de 13°C (72-74%) e de 15°C (67-73%), do que no de 20°C (24-28%). Na amostragem final não foram observadas diferenças estatísticas significativas no peso corporal entre os grupos experimentais; entretanto, em todos os grupos, as fêmeas foram significativamente maiores que os machos. Koumoundouros et al. (2002) em sequência ao trabalho anterior, examinando o que denominaram de mecanismo de determinação sexual pela temperatura (DST), testaram para diferentes estágios de desenvolvimento de larvas, duas temperaturas (15 e 20°C) e devido a diferenças de tamanho encontradas no mesmo grupo, os animais foram, também, separados em pequenos e grandes e submetidos a estas duas temperaturas. Durante a fase seguinte de crescimento, todos os grupos foram mantidos na mesma

---

<sup>1</sup> informação verbal

condição de cultivo. Novamente foram observadas maiores incidências de fêmeas, no grupo exposto a temperatura de 15°C. Também foi confirmado um maior crescimento por parte das fêmeas em relação aos machos. Os autores concluem que o sea bass é sensível ao DST durante todos os diferentes estágios ontogenéticos até a metamorfose e que a proporção sexual está correlacionada com a taxa de crescimento dos peixes bem antes da diferenciação e maturação das gônadas. Saillant et al. (2002) trabalhando com 27 famílias do sea bass, testaram duas temperaturas (13 e 20°C) em fases distintas de crescimento e também, em diferentes densidades de estocagem. Os resultados apresentados neste trabalho mostram uma discrepância grande em relação aos dois trabalhos anteriores, mostrando, em algumas famílias, uma elevada produção de machos tanto, na temperatura mais baixa (13 °C) quanto na mais alta (20 °C). A principal contribuição do trabalho é sugerir a presença de famílias não sensíveis genotipicamente ao tratamento de temperatura proposto pelos autores. Já Mylonas et al. (2005) verificaram a influência de três temperaturas (13, 17 e 21° C) para duas cepas do sea bass, do noroeste e do sudeste do Mar Mediterrâneo. Foram expostos durante a fase larval, 11-51 dias após a eclosão (DAE) ou períodos de berçário (55-95 DAE), a fim de examinar os efeitos da temperatura na diferenciação do sexual e no subsequente crescimento durante o primeiro ano de vida. Crescimento maior foi observado para as temperaturas maiores, mas os peixes da cepa de Nanowatt expostos a 13 ou a 17° C, durante a fase larval, após este período, mostraram crescimento compensatório e em consequência seu tamanho final, com 300 dae, foi similar ao grupo de peixes expostos 21° C. Como esperado, durante as manipulações da temperatura os peixes expostos as temperaturas maiores exibiram um crescimento mais elevado (21 > 17 > 13° C). Os autores comentam, ainda, que em relação aos efeitos da temperatura na proporção sexual que a exposição no período larval é mais sensível do que o período de berçário e maior porcentagem de fêmeas para as duas temperaturas menores, mas a fase que apresentou melhor resultado neste trabalho foi a de berçário (55-95 DAE).

Blázquez et al. (2009) estudaram modelos de correlação, para sea bass, durante o período de 0-120 dias após fecundação DAE, ao longo do período termo sensível (TSP), foram expostos a temperatura de 15 °C, que produz um maior número de fêmeas ou a de 21 °C que produz mais machos. Os autores utilizaram aromatase (cyp19a1a), 11βhidroxilase (cyp11b), o receptor do andrógeno (arb) e os receptores do hormônio estrogênico (era, erb1 e erb2) validados por qPCR previamente, durante a diferenciação sexual. As maiores relações pelo

modelo de avaliação canônica adotado foram para (cyp19a1a) e 11 $\beta$ hidroxilase (cyp11b), e não para (era, erb1 e erb2), em relação a expressão gênica para diferenciação sexual da espécie.

Enfim, a obtenção de animais maiores imaginando uma produção comercial, claramente pode produzir resultados em termos da escala produtiva. Levando-se em consideração os fatores acima, fica claro que uma mudança na proporção sexual de animais produzidos e cultivados em laboratório possa ser objetivada para uma maximização da produção aquícola.

## Objetivos

### 2.1. Objetivo Geral

Adaptar tecnologias que contribuam para a maturação e reprodução do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* e proporcionem melhoras para o crescimento de alevinos do robalo-peva, *Centropomus parallelus* mantidos em confinamento.

### 2.2. Objetivos específicos

- ✓ Verificar o efeito de diferentes regimes térmicos sobre a maturação de reprodutores do robalo-flecha
- ✓ Verificar a utilização de implantes de silicone com  $17\alpha$  metiltestosterona,  $17\alpha$  metiltestosterona + LHRHa sobre o processo de maturação do robalo-flecha.
- ✓ Verificar o emprego de injeções semanais do hormônio gonadotrófico coriônico humano (HCG) e do Hormônio Folículo estimulante (FSH) sobre o processo de maturação do robalo-flecha.
- ✓ Verificar o efeito da temperatura sobre o crescimento de alevinos do robalo-peva.
- ✓ Verificar o efeito da temperatura sobre a mudança da proporção sexual de alevinos do robalo-peva

CAPÍTULO II – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES  
TÉRMICOS NA MATURAÇÃO SEXUAL DE MACHOS DO  
ROBALO-FLECHA *Centropomus undecimalis*.

Revista: Boletim do Instituto de Pesca  
Enviado para publicação em: 16/11/2009

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES REGIMES TÉRMICOS NA  
MATURAÇÃO GONADAL DE MACHOS DO ROBALO-FLECHA,  
*Centropomus undecimalis*.

Eduardo de Medeiros FERRAZ<sup>1,2</sup> Vinicius Ronzani CERQUEIRA<sup>3</sup>

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi estabelecer condições térmicas favoráveis para a maturação gonadal do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* em laboratório. O fotoperíodo natural foi simulado por lâmpadas fluorescentes (1000 lx). Controle da temperatura da água foi obtido por aquecedores elétricos. Os peixes (n=54), com peso de  $2350 \pm 488$  g e comprimento de  $643 \pm 40$  mm foram distribuídos em seis tanques de 8000 L com filtragem biológica e renovação de água. Dois tratamentos com três repetições foram definidos: T1 = 19,9 °C, no início e chegando a 26 °C (conforme aumento natural) e T2 = 26 °C constantes desde outubro até o mês de maio. A maturação foi acompanhada por análises bimestrais durante o período de setembro a maio (2006/2007). Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para peso, comprimento, fator de condição e taxa de crescimento específico. Ao final do período, 85% do plantel (comparados a 45% do período anterior) expressaram maturação sexual. Não foram observadas diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para o volume de sêmen e o número de machos com espermição. Mas o melhor período de produção espermática foi março. Os resultados não permitiram definir o melhor regime térmico, entre os dois testados. Observou-se que um incremento precoce para a temperatura de 26 °C, ainda na primavera, não favoreceu a maturação. Portanto, novos experimentos são necessários para determinar a ação da temperatura e de outros parâmetros ambientais, de forma a se obter um melhor controle da maturação sexual do robalo-flecha em confinamento.

Palavras-chave: robalo-flecha; *Centropomus undecimalis*; regimes térmicos; maturação; machos; fotoperíodo natural simulado.

---

<sup>1</sup> Pesquisador Científico – Instituto de Pesca – APTA <sup>2</sup> Aluno de Doutorado em Aqüicultura da UFSC. [emferraz@pesca.sp.gov.br](mailto:emferraz@pesca.sp.gov.br)

<sup>3</sup> Professor – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias; Departamento de Aqüicultura: [vrquerqueira@cca.ufsc.br](mailto:vrquerqueira@cca.ufsc.br)

INFLUENCE OF DIFFERENT THERMAL REGIMES IN THE  
GONADAL MATURATION OF MALES OF THE COMMON SNOOK  
*Centropomus undecimalis*

ABSTRACT

The objective of the present study was to establish favorable thermal regimes to induce gonadal maturation of the common snook, *Centropomus undecimalis* in laboratory. Natural photoperiod was simulated using fluorescent lamps (1000 Lx). Water temperature was controlled by heaters. The fish (n=54), with  $2350 \pm 488$  g in weight and  $643 \pm 40$  mm in length, were distributed in six experimental units. These consisted of 8000-L tanks containing a biological filter and sea water renewal. Two treatments with three replicates were applied: T1 = temperature varying from 20 °C at the beginning to 26 °C in March (natural variation) and T2 = constant temperature of 26 °C from October till May. Sexual maturation was followed taking bimonthly samples from September to May (2006/2007). There were no significant differences ( $p>0.05$ ) between treatments (T1 and T2) in weight, length, condition factor and specific growth rate. At the end of the period, 85% of the fish expressed sexual maturation (compared to 45% in the previous year). There were no significant ( $p>0.05$ ) influence of the thermal regimes on the volume of semen and on the number of spermiating fish. The best spermiation period was March. These results did not support the assumption that increasing spring temperature to 26 °C could efficiently induce sexual maturation. Further experiments should still investigate the influence of temperature and other environmental conditions in order to control reproduction of the common snook in captivity.

Key words: common snook; *Centropomus undecimalis*; thermal regimes; maturation; males, simulated natural photoperiod.

## 1. INTRODUÇÃO

Um ponto importante para o desenvolvimento da piscicultura marinha é a melhoria de programas de controle dos processos reprodutivos em cativeiro. A chave para o desenvolvimento das atuais e futuras tecnologias de desova é o entendimento do efeito do confinamento sobre o sistema endócrino dos peixes (ZOHAR and MYLONAS, 2001). Exemplo disso pode ser visto na piscicultura do robalo asiático, *Lates calcarifer*, uma espécie marinha da família Latidae, cujos conhecimentos sobre a fisiologia reprodutiva estão bastante avançados, permitindo uma produção de 100 a 150 milhões de juvenis por ano em laboratório, somente na Tailândia (ALVAREZ-LAJONCHÈRE and TSUZUKI, 2008).

Para BROMAGE et al. (2001) o fotoperíodo é o principal fator “aproximador” da maturação e exerce papel fundamental em sua regulação para espécies de clima frio e temperado. No entanto, PANKHURST and PORTER (2003) propõem que a sequencia de eventos reprodutivos para peixes tropicais depende mais de mudanças na temperatura do que no fotoperíodo. Parece claro que mudanças associadas a estes fatores abióticos são de grande importância em sistemas de confinamento.

No Brasil, as espécies de robalo que têm mostrado grande potencial para avanço da piscicultura marinha são o robalo-peva, *Centropomus parallelus* e o robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, dada a sua qualidade da carne, valor econômico e potencial para a pesca esportiva. A maturação e desova do robalo-peva foi obtida no Brasil de exemplares criados em laboratório e as técnicas desenvolvidas permitem sua larvicultura e produção de juvenis em escala crescente, dependendo da demanda (CERQUEIRA and TSUZUKI, 2009). Em relação ao robalo-flecha, poucos avanços foram obtidos até o momento no Brasil. A maturação em cativeiro é vista como o principal entrave para a produção da espécie (CERQUEIRA, 2009). A desova em cativeiro foi obtida pela indução hormonal e extrusão de gametas a partir de reprodutores selvagens (fêmeas) e animais mantidos em cativeiro (machos), mas com pequena porcentagem de fertilização devido ao pequeno volume de sêmen obtido (SOLIGO et al., 2008).

O presente estudo tem por objetivo obter, em cativeiro, reprodutores maduros do robalo-flecha, aplicando diferentes regimes térmicos associados à simulação do fotoperíodo natural.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Os indivíduos e seu sistema de confinamento

O presente ensaio utilizou robalos-flecha juvenis capturados no litoral da Bahia (município de Santo Amaro) e transportados para as instalações do laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina, no município de Florianópolis – SC, em 1999. Os juvenis foram criados em tanques-rede instalados em viveiro com água salobra e sob influência de maré. Foram alimentados com ração comercial para peixes carnívoros (40-50% de proteína) e transferidos no ano de 2003 para tanques de concreto de 8.000 L, com água marinha (35‰), filtro biológico interno, renovação de água (5%/h) e aeração constantes, localizados no interior de duas salas utilizadas para a manutenção de reprodutores.

Próximo ao período reprodutivo do verão de 2006/2007, os tanques receberam um sistema individual de controle do fotoperíodo e da temperatura. Estavam isolados de forma que a iluminação de um não influísse sobre os demais, e que os peixes não percebessem qualquer movimentação externa ao seu próprio tanque.

A iluminação de cada tanque consistia de quatro lâmpadas fluorescentes de 32 W. O nascer e o por do sol foram simulados por três lâmpadas incandescentes de 60 W. O acionamento de cada grupo de lâmpadas foi feito através de um programador de tempo, com 30 minutos de diferença. A intensidade de luz obtida na superfície da água foi de aproximadamente 100 Lx para as incandescentes e de 1000 Lx, com o acionamento das lâmpadas fluorescentes. A partir de julho de 2006, o fotoperíodo natural foi simulado, baseando-se em cálculos astronômicos para altitude 1,84, latitude -27.36 e longitude -48.37, realizados pelo Centro de Informações e Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina (CIRAM) da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI, para os anos de 2006 e 2007), os valores ajustados semanalmente de forma crescente de 10,6 hs em julho (inverno), até o máximo de até 13,8 hs em dezembro, e decaindo até 10,7 hs, no mês de maio (Figura 1). Em um dos tratamentos (T1) a temperatura da água não foi controlada variando conforme a temperatura da água de abastecimento e no outro (T2) o controle foi feito através de aquecedores de titânio de 3000 W, ativados por termostatos eletrônicos.

O alimento consistia de 50% de um produto comercial seco (Fish Breed-M<sup>®</sup> da empresa INVE Aquaculture) e 50% de matéria úmida

moída (30% de sardinha e 20% de lula), preparado na forma de péletes prensados e úmidos, com 1,5 cm de diâmetro por 4,0 cm de comprimento, com teor final de proteína bruta de 65%. A taxa de alimentação foi de 1% do peso vivo por dia, de três vezes a cinco vezes na semana.

A temperatura (°C) e a salinidade (‰) foram medidas diariamente e a amônia total (mg/L) e o pH duas vezes por semana. Os valores observados foram: temperatura de 20,5 a 27,7 °C, salinidade de 35 a 36 ‰, pH de 8,0, oxigênio de 5,0 a 6,9 mg/L e amônia de 0 a 0,12 mg/L.

## 2.2. Delineamento experimental

Em setembro de 2006, 54 adultos de robalo-flecha (peso médio de  $2.348,0 \pm 488,0$  g e comprimento médio de  $642,0 \pm 40,0$  mm) foram divididos entre seis tanques de 8000 L de capacidade ( $2,6 \text{ kg/m}^3$ ). Destes, foram identificados no período reprodutivo anterior (verão de 2005/2006), vinte e seis machos e para o restante não foi possível determinar o sexo no período da instalação do experimento. Vinte e quatro machos foram distribuídos igualmente pelos seis tanques e os dois restantes foram ao acaso para um tanque de cada tratamento. Os animais estavam marcados com microchip eletrônico (AVID).

Dois tratamentos com três repetições foram estabelecidos. A temperatura da água manteve-se igual até outubro para os dois tratamentos. No tratamento (T1) a temperatura da água não foi controlada variando conforme a temperatura da água de abastecimento (19,9 °C no início e chegando a 26 °C conforme aumento natural). No tratamento (T2) foi elevada até 26,0 °C  $\pm$  0,5°C, a partir do meio de outubro 2006, mantendo-se constante até maio, conforme a Figura 1.

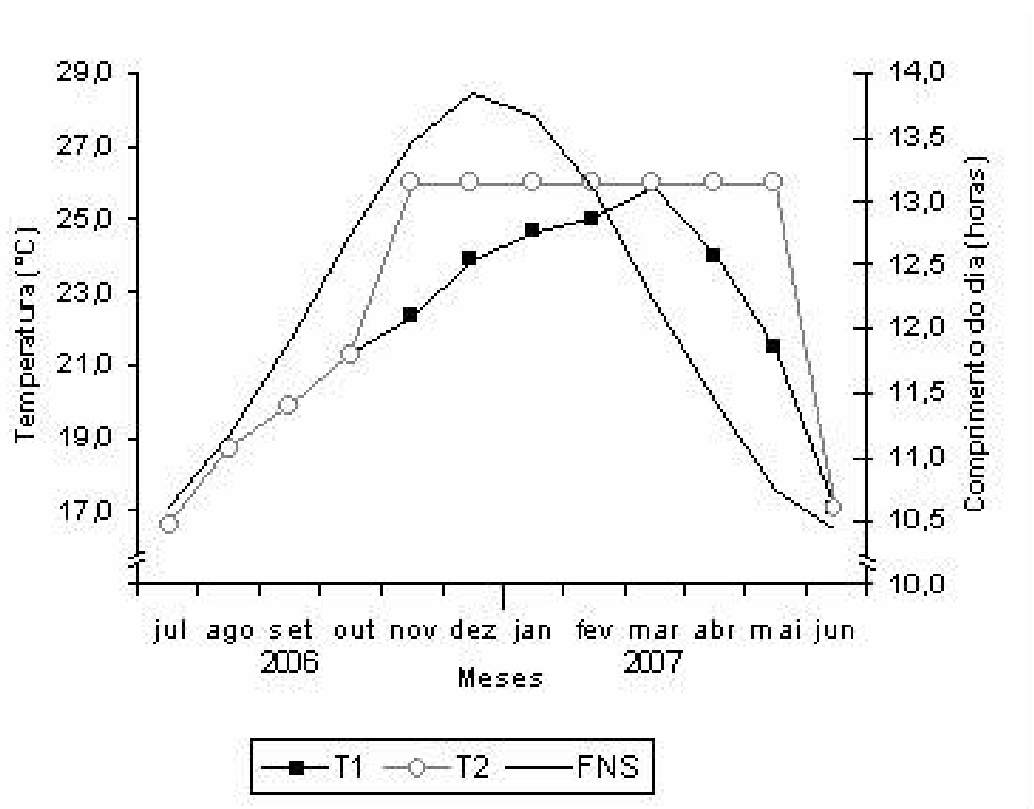


Figura 1. Variações médias da temperatura para os dois regimes térmicos examinados T1 e T2 e do fotoperíodo natural simulado (FNS) no verão 2006/2007.

Na metade de janeiro de 2007 para a coleta do mês, cada indivíduo recebeu uma injeção com o análogo do Hormônio Liberador do Hormônio Luteinizante (LHRHa da empresa Sigma-Aldrich) em solução salina na dosagem de 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso vivo, por volta das 22.00 h, e foram examinados após 36 horas.

### 2.3 Avaliação dos reprodutores

Foi feita uma avaliação bimestral da maturação sexual no período de setembro de 2006 a maio de 2007. Os indivíduos foram anestesiados com benzocaína (60  $\text{mg L}^{-1}$ ), para determinação do comprimento total

(C) e do peso (P). O principal critério para identificação da maturação gonadal para machos foi a presença de sêmen, e para fêmeas a presença de ovócitos. Os animais anestesiados foram massageados na região ventral, no sentido crânio-caudal, para verificar a liberação de sêmen na papila genital. Uma seringa hipodérmica de 1 mL foi utilizada para medição do volume espermático. Volumes menores de sêmen foram aferidos com seringa com precisão em  $\mu\text{L}$  (Hamilton 10 $\mu\text{L}$ ). Na ausência de sêmen realizou-se uma biópsia com catéter plástico (0,8 mm de diâmetro interno), inserido no gonoduto (FERRAZ et al., 2004). O material coletado foi examinado em estereomicroscópio. Havendo ovócitos, foi feita uma medição do seu diâmetro. A partir do número de indivíduos maduros em cada amostragem foi calculada a taxa de maturação sexual, em porcentagem.

O fator de condição (K) foi calculado como  $(P(\text{g})/C(\text{cm})^3) \times 100$ . Os dados do peso foram usados para calcular a taxa de crescimento específico:  $\text{TCE} = (\ln P_2 \times \ln P_1) \times 100 / (t_2 - t_1)$ , onde  $P_1$  e  $P_2$  correspondem aos pesos dos peixes nos tempos  $t_1$  e  $t_2$ , respectivamente, e  $(t_2 - t_1)$  é o número de dias entre pesagens.

## 2.4 Análise dos dados

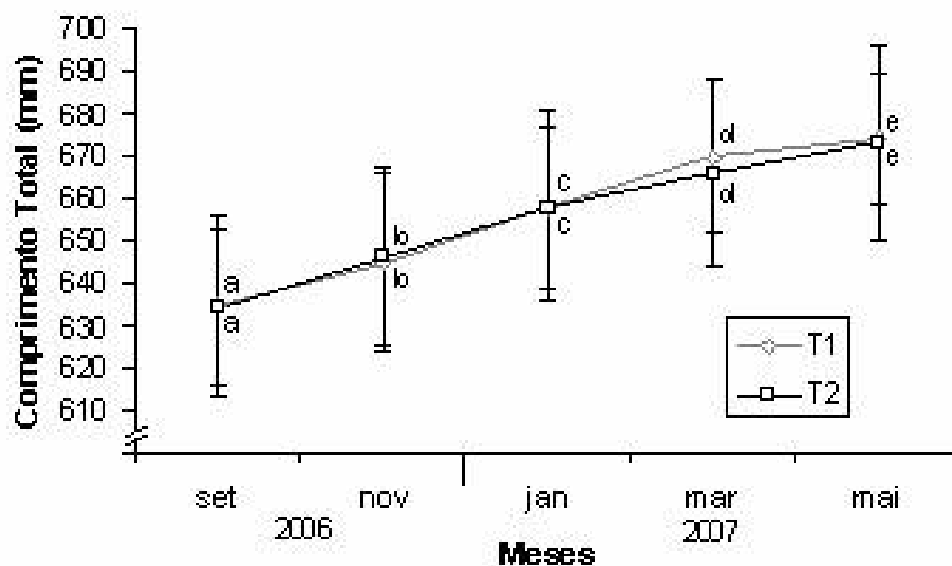
Os parâmetros de comprimento médio (mm), peso médio (g) e fator de condição foram comparados pela análise de medidas repetidas (ANOVA). Diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. As médias são apresentadas  $\pm$  o desvio padrão (dp). Os dados de taxa de crescimento específico e porcentagem de machos observados no plantel foram transformadas para valores de arco-seno, para posterior aplicações análise de medidas repetidas (ANOVA). Os volumes de sêmen foram avaliados pela análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. O aplicativo Statistica® 7.0 foi utilizado para as análises.

## 3. RESULTADOS

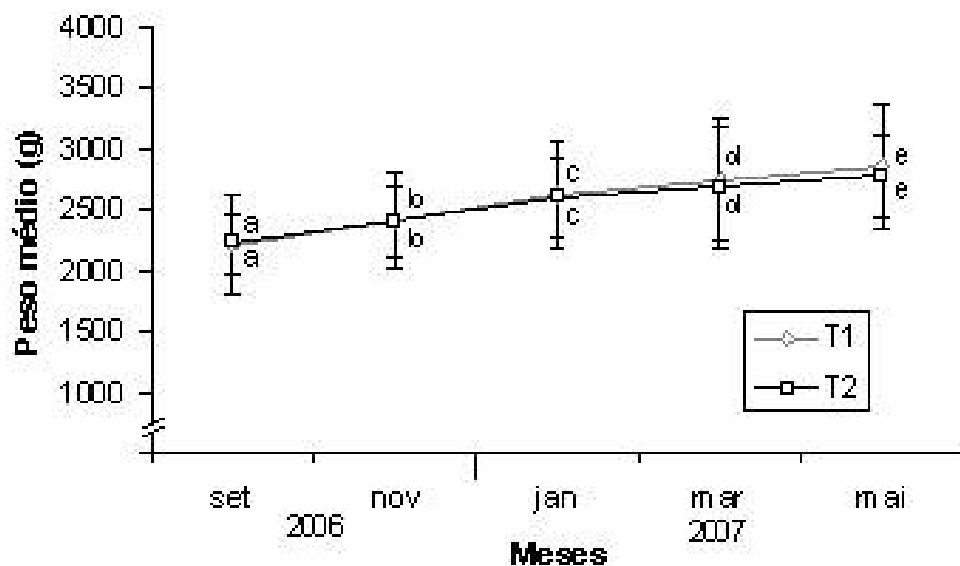
Os tratamentos térmicos não resultaram em diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para comprimento, peso, fator de condição (K) e taxa de crescimento específico, como mostrado na Figura 2. Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) apenas nas comparações entre os meses. Em relação ao peso médio dos animais verificou-se um incremento diário de 2,23 g para um período de aproximadamente 270

dias, e no mesmo período os animais tiveram um aumento médio em comprimento total de 39 mm.

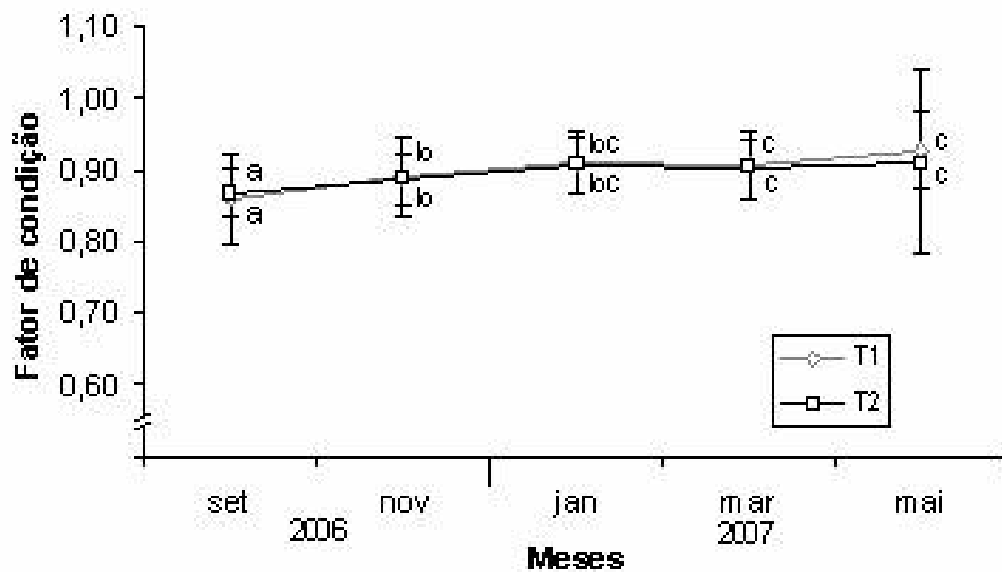
#### A) Comprimento total (mm)



#### B) Peso médio



#### C) Fator de condição



#### D) Taxa de crescimento específico

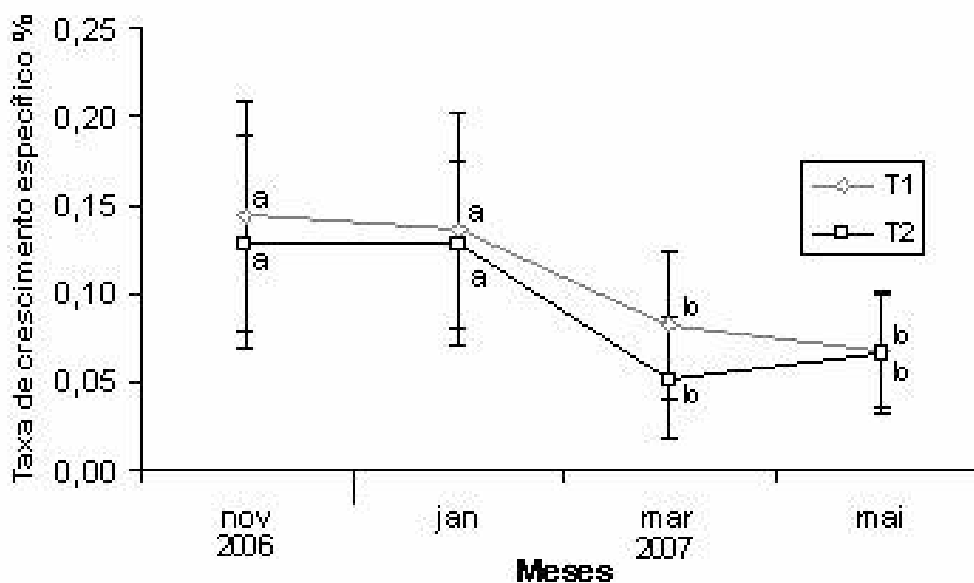


Figura 2. Comprimento total (mm) (A), peso (g) (B), fator de condição (C) e taxa de crescimento específico (%) (D), valores  $\pm$  desvio padrão (dp); do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no verão 2006/2007 em dois regimes de temperatura (T1 e T2). Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os meses.

O mês de setembro corresponde a identificação aos 13 machos de cada tratamento identificados durante o período reprodutivo anterior (2005/2006), perfazendo 48,1% do lote.

Através da avaliação bimestral da maturação sexual foi possível detectar um aumento na identificação de machos nos dois grupos examinados e no mês de março de 2007, identificou-se 27 machos em cada grupo, perfazendo 85,2% dos indivíduos (Figura 3). A taxa de maturação sexual foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) entre os períodos amostrais, mas não entre os dois tratamentos.

Durante todo o período somente uma fêmea foi identificada em janeiro, estando entre os exemplares de maior tamanho do grupo experimental (758 mm e 4.130 g). Os ovócitos tinham diâmetro inferior a 50  $\mu\text{m}$  nas amostras tanto de janeiro como de março de 2007. Não apresentavam indício de acúmulo de vitelo, o que foi evidenciado por sua transparência.

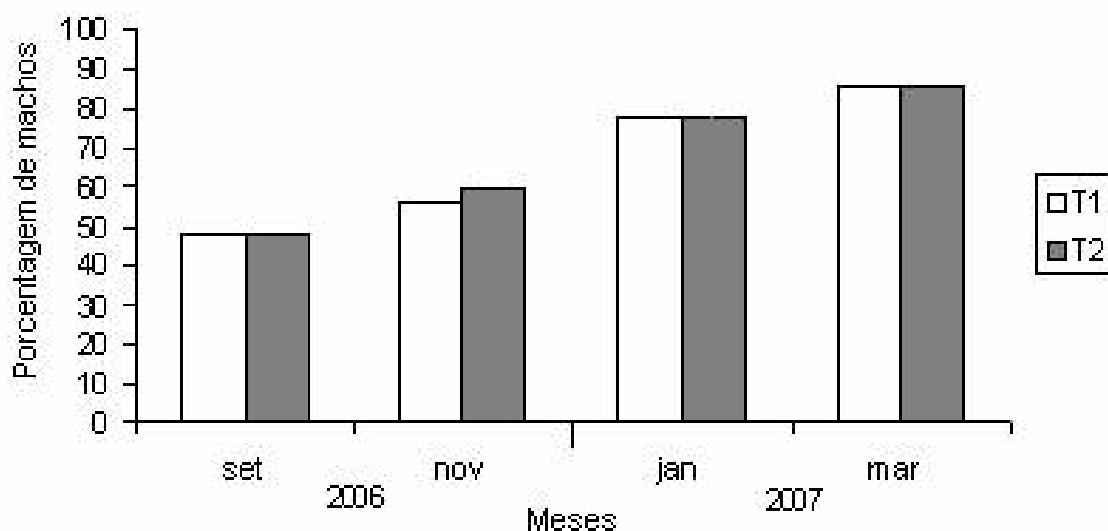


Figura 3. Porcentagem de machos do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* do plantel no verão 2006/2007 em dois regimes térmicos (T1 e T2). O mês de setembro corresponde aos animais previamente identificados no ano anterior.

A produção de sêmen foi outro critério para avaliação dos reprodutores. Houve um aumento no volume de sêmen ao longo do período (Figura 4), com picos em janeiro e março de 2007. Em maio de 2007 somente um macho estava espermiando e os valores chegaram a praticamente zero. Os valores médios do volume de sêmen para os exemplares no T1, foram  $12,9 \pm 7,6 \mu\text{L}$  (10 - 30  $\mu\text{L}$ ),  $48,7 \pm 87,2 \mu\text{L}$  (10 - 320  $\mu\text{L}$ ) e  $85,0 \pm 104,2 \mu\text{L}$  (10 - 400  $\mu\text{L}$ ) e para aqueles no T2 foram de  $13,3 \pm 15,6 \mu\text{L}$  (10 - 60  $\mu\text{L}$ ),  $14,7 \pm 12,3 \mu\text{L}$  (10 - 60  $\mu\text{L}$ ) e  $47,0 \pm 65,5 \mu\text{L}$  (10 - 200  $\mu\text{L}$ ), respectivamente para os meses de

novembro, janeiro e março. A grande amplitude de variação refletiu nos altos valores do desvio padrão, não apresentados. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os dois tratamentos avaliados pela análise não paramétrica de Kruskal-Wallis.

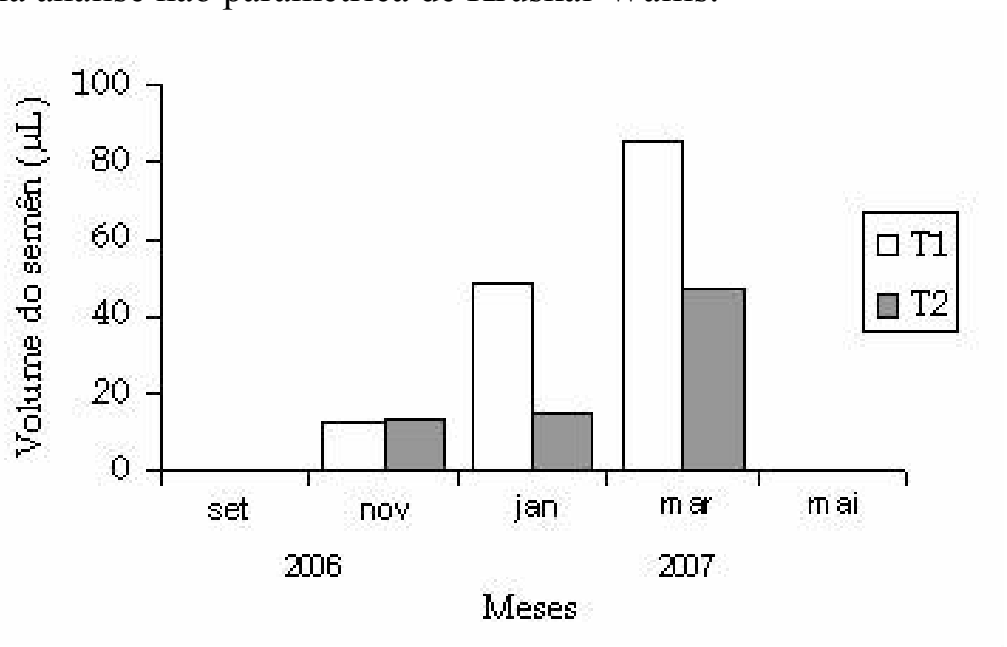


Figura 4. Volume de sêmen do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no verão 2006/2007 em dois regimes térmicos (T1 e T2).

#### 4. DISCUSSÃO

Nas condições ambientais simuladas no presente trabalho ficou claro que o robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* mostrou uma disfunção em relação ao desenvolvimento gonadal. Nem todos os indivíduos apresentaram maturação gonadal, os machos maduros liberavam um pequeno volume de sêmen e a única fêmea sequer alcançou o estágio de vitelogênese. No entanto, em relatos recentes RESLEY et al. (2009) cometam o sucesso na obtenção de exemplares maduros da espécie em condições similares de fotoperíodo de luz solar, mas com acréscimo do emprego de fotoperíodo lunar, e da utilização de temperaturas maiores que a utilizada no presente trabalho. Segundo os autores outra importante relação parece estar associada, a adição de uma dieta rica em ácido araquidônico (ARA). HOLT and KLINE (2009) verificaram obtenção de animais maduros em sistema de recirculação (raceway) em água salgada, com condições similares ao do presente trabalho. No entanto, as temperaturas foram mais elevadas no período de verão (28°C). Os autores relatam a obtenção de desovas sem a utilização de hormônio, mas sem a obtenção de fertilização dos ovócitos. SÁNCHEZ-ZAMORA (2009) também para espécie comenta que



variações bruscas de salinidade podem ter importância para obtenção de fêmeas maduras em condições de cativeiro.

Desta forma, a questão passa a ser qual fator pode ser decisivo para a maturação do robalo-flecha em cativeiro? Alimento, fotoperíodo (existindo a necessidade do emprego do ciclo lunar), temperatura ou salinidade?

Uma alimentação adequada, junto a outros fatores ambientais, é considerada essencial para a maturação e desova de peixes em cativeiro (HARVEY and CAROLSFELD, 1993). No México, SÁNCHEZ-ZAMORA et al. (2002) tiveram sucesso na obtenção de exemplares maduros do robalo-flecha, com uma dieta à base de carne de peixe e suplemento de óleo de peixe. REYES et al. (2004) e FRAGA et al. (2006) relataram um bom crescimento para reprodutores robalo-flecha em Cuba, com rações úmidas com cerca de 40% de proteína, à base de farinha de peixe, carne de peixe e de lula, com uma frequência alimentar similar à do presente estudo. No entanto, os valores de incremento de peso diário verificado para o robalo-flecha neste trabalho (2,23g/dia) foram superiores aos observados por FRAGA et al. (2006) (0,82 g/dia) para espécie, mas no caso examinado por estes autores inclui-se períodos de baixa temperatura. TAYLOR et al. (2000) relatam que exemplares do robalo-flecha criado em tanque estuarino na Flórida, alimentados com lula, peixe e ração de truta, cresceram em relação ao comprimento médio cerca 26 mm em 13 meses, incluindo o inverno, no presente estudo para período avaliado (9 meses), o aumento no comprimento total médio observado foi de 39 mm.

Segundo MOURENTE et al. (2002), peixes marinhos geralmente acumulam grandes depósitos de lipídio durante a maturação gonadal sexual, usado como energia metabólica durante a migração e mobilizado pelas fêmeas no desenvolvimento dos ovócitos. Para TOCHER (2003), os ácidos graxos não são apenas as principais fontes de energia metabólica para crescimento dos ovócitos, eles são também a principal fonte de energia para a reprodução. A importância dos ácidos graxos em dietas experimentais foram examinadas com sucesso para reprodutores de peixes marinhos como o pargo-europeu, *Sparus aurata* (FERNÁNDEZ-PALACIOS et al., 1995; 1997; ALMANSA et al., 1999) o robalo-europeu, *Dicentrarchus labrax* (BELL et al., 1997; BRUCE et al., 1999; ASTURIANO et al., 2001) e o linguado do Atlântico, *Hippoglossus hippoglossus* (MAZORRA et al., 2003). O comportamento alimentar dos peixes no presente estudo foi considerado adequado, visto a aparente condição de ganho de peso e comprimento, similar ou superior, ao observado em trabalhos prévios para espécie

(TAYLOR et al., 2000; FRAGA et al., 2006; REYES et al., 2004). Outro critério importante em relação a qualidade da ração utilizada neste trabalho, são os resultados obtidos para maturação, desova e boa qualidade das larviculturas realizadas com o robalo-peva, *C. parallelus* em Santa Catarina (CERQUEIRA and TSUZUKI, 2009). Portanto, é bastante provável que a dieta fornecida seja apropriada e que não tenha sido a principal causa da dificuldade na maturação.

O fotoperíodo é um dos fatores ambientais mais importantes na reprodução, tanto que BROMAGE et al. (2001) o consideraram como o principal fator “aproximador” da maturação, provavelmente, associado à temperatura, ao estado nutricional e a outros fatores, que atuando de maneira “permissiva”, dando sequência à maturação. Para BOEUF and LE BAIL (1999), a qualidade da fonte de luz deve ser adequada para a espécie em estudo, de maneira que tanto a intensidade, quanto o tipo de iluminação, proporcionem um espectro adequado para que o animal diferencie o claro do escuro, e com isso as condições de fotoperíodo possam ser controladas. O sistema de iluminação no presente trabalho foi baseado na simulação do nascer do sol, passando de zero para 100 e para 1000 Lux, e inversamente para o por do sol. Os valores simulados de exposição a luz foram de 10,6 hs em julho (inverno), até o máximo de 13,8 hs em dezembro (verão), e decaindo até 10,7 hs, no mês de maio. ROBERTS (1987) examinou para espécie fotoperíodos de 8 hs de luz para 16 de escuro, 16 hs de luz para 8 de escuro e 12 hs de luz para 12 de escuro por 120 dias, sendo os melhores resultados de maturação dos animais verificados com maior exposição de luz. HOLT and KLINE (2009) comentam o emprego de fotoperíodo de 14 hs de luz no verão e de 10 hs luz no inverno, associado ao emprego do ciclo lunar natural foi efetivo para maturação do robalo-flecha. RESLEY et al. (2009) empregando fotoperíodo de 12 hs de luz, por dois meses no inverno; 13 hs de luz, por um mês na primavera, seguido por 14 a 15 hs de luz no resto do verão, associados também ao ciclo lunar, também conduziram a resultados positivos na maturação da espécie. Os autores comentam que no total 1000 unidades de luz foram utilizadas no conjunto (luz do dia e ciclo lunar). Diferentemente dos trabalhos citados, apenas não utilizamos ciclo lunar no experimento, mas maiores estudos são necessários para saber o quanto a simulação do ciclo lunar pode ser um fator realmente decisivo na maturação da espécie em cativeiro. Desta forma acreditamos que também não tenha sido o uso do fotoperíodo lunar o diferencial em relação ao presente trabalho.

PANKHURST and PORTER (2003) propuseram que o desenrolar dos eventos reprodutivos nos peixes tropicais depende muito

mais de mudanças na temperatura do que do fotoperíodo. Isto também foi sugerido para o robalo-flecha por TAYLOR et al. (1998), que verificaram um aumento no índice gonadossomático à medida que a temperatura da água e o fotoperíodo aumentavam no litoral da Flórida. YANES-ROCA (2006), trabalhando também no litoral da Flórida, verificou uma redução no número de capturas de robalo-flecha maduros em anos em que a temperatura da água no período de desova foi inferior a 25°C. Na condução do presente experimento, a elevação da temperatura da água até  $26 \pm 0,5$  °C (T2), baseou-se nos valores encontrados para a água do mar captada para o laboratório durante o verão, como pode ser observado no aumento gradual ocorrido na temperatura da água do outro tratamento (T1). No litoral da Flórida, ROBERTS (1987) utilizou um sistema de recirculação de água fechado para reprodutores de robalo-flecha, com temperatura constante de 27 °C por um período de 120 dias, mas sem conclusiva maturação das gônadas. HOLT and KLINE (2009) verificaram que temperatura da água de 21°C durante o inverno e 28°C no verão foram efetivas para maturação da espécie. RESLEY et al. (2009) utilizaram variações de temperatura da água de 24°C no inverno, 26°C na primavera e 28°C no verão, com efetivos resultados de maturação da espécie. Talvez, a chave das variáveis aplicadas possa realmente estar associada ao emprego de maiores temperaturas nas diferentes fases de manutenção dos reprodutores.

Apesar das dificuldades, a taxa de maturação total ou número de machos espermiando dos reprodutores foi de 85%, ou seja, 40% a mais do que no período reprodutivo anterior (verão de 2005/2006), indicando uma possível melhora nas condições ambientais utilizadas no presente experimento.

Com respeito às fêmeas, apenas um exemplar, que não tinha o sexo determinado no período reprodutivo anterior, foi identificado efetivamente. A dificuldade encontrada em relação a pequena quantidade de reprodutores femininos no plantel, pode ser justificada por se tratar de uma espécie protândrica, confirmado por (TAYLOR et al., 2000) que verificaram a reversão sexual para espécie em condições de confinamento em taxas bastante reduzidas (3% da população examinada). A seleção de animais selvagens reconhecidamente fêmeas pode ser uma medida bastante importante na renovação do plantel reprodutores atualmente utilizado

A maior produção espermática, em volume de sêmen e número de machos espermiando foram observadas no mês de março. SOLIGO et al. (2008) induziram o robalo-flecha com o hormônio LHRHa, no

começo de janeiro de 2006 e constataram um reduzido volume de sêmen do robalo-flecha. É possível que as condições do início do verão não fossem ainda as ideais.

Segundo TRIPPEL (2003), estudos com machos são bem menos numerosos que os das fêmeas, mas vem aumentando na última década, o autor em trabalho de revisão descreve características importantes ligadas a sucesso reprodutivo para machos, e apresenta citações de produção espermática consistente para peixes marinhos como o bacalhau, *Gadus mohua*, que pode produzir 125 mL de sêmen (TRIPPEL and NEILSON, 1992), o linguado, *Scophthalmus maximus* que em cativeiro chega a produzir 4,9 mL de sêmen para animais com 1,4 – 3,2 Kg (SUQUET et al. 1994). Já SORBERA et al. (1996) em ensaio sobre a ação hormonal prolongada do hormônio GnRH $\alpha$  para o robalo europeu, *Dicentrarchus labrax*, obtiveram picos de até 3,9 mL de sêmen/ Kg de peixe. Os volumes de sêmen obtidos no presente trabalho (o maior valor de 400  $\mu$ L) poderiam indicar uma deficiência na espermatogênese destes animais. Por outro lado, nem mesmo a utilização do hormônio LHRH $\alpha$  foi capaz de estimular a produção de sêmen, prevalecendo o bloqueio. Para ZOHAR and MYLONAS (2001), a maioria dos peixes criados em cativeiro exibe alguma forma de disfunção reprodutiva, em fêmeas, existem frequentemente falhas para alcançar a maturação final do ovócito, ovulação e desova; enquanto que em machos a produção de sêmen é pequena e de baixa qualidade. Ainda, segundo os autores problemas reprodutivos, sobretudo das fêmeas, podem diminuir com a domesticação dos animais, diminuindo inclusive a necessidade de agentes hormonais.

Como conclusão, verificou-se que a maturação em cativeiro do robalo-flecha é bastante difícil, e poderia exigir um controle ambiental distinto do que foi utilizado no presente trabalho, sobretudo com respeito à temperatura. Apesar disso, o aumento na maturação sexual dos reprodutores em comparação ao ano anterior, bem como a maior produção espermática no mês de março, são informações importantes para que se possa ter um maior controle do ciclo reprodutivo desta espécie.

#### AGRADECIMENTOS:

Aos Técnicos e colegas de trabalho do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), a José Luiz Pedreira Mouriño pela ajuda nos tratamentos estatísticos e à pesquisadora Patricia de Paiva pela leitura e sugestões.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMANSA, E.; JOSÉ PÉREZ, M.; CEJAS, J. R.; BADÍA, P.; VILLAMANDOS, J. E. ; LORENZO, A. 1999 Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture*, 170: 323-336.
- ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. e TSUZUKI, M.Y. 2008 A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research*, 39: 684-700.
- ASTURIANO, J.F.; SORBERA, L.A.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; RAMOS, J.; NAVARRO, J.C.; BROMAGE, N. 2001 Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture*, 194: 173-190.
- BELL, J. G.; FARNDAL, B. M.; BRUCE, M. P.; NAVAS, J. M.; CARILLO, M. 1997 Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 149: 107-119.
- BOEUF, G. e LE BAIL, P.Y. 1999 Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129–152.
- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. 2001 The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, 197: 63-98.
- BRUCE, M.; OYEN, F.; BELL, G.; ASTURIANO, J. F.; FARNDAL, B.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; RAMOS, J.; BROMAGE, N. 1999 Development of broodstock diets for the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture*, 177: 85-97.
- CERQUEIRA, V.R. 2009 Spawning and larviculture of the fat snook (*Centropomus parallelus*) and the common snook (*Centropomus*

- undecimalis*) in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.
- CERQUEIRA, V. R. e TSUZUKI, M. Y. 2009 A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 17–28.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VALENCIA, A.; SALHI, M.; VERGARA, J.M. 1995 Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132: 325-327.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VALENCIA, A.; SALHI, M.; MONTERO, D. 1997 The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, v. 148: 233-246.
- FERRAZ, E. M.; ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CERQUEIRA, V. R.; CANDIDO, S. 2004 Validation of an ovarian biopsy method for monitoring oocyte development in the fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, 1860 in captivity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, 47(4): 643-648.
- FRAGA, I., REYES, R., ORTEGA, N.J., REGUEIRA, E., FONT, R., BRAVO, A. 2006 Desarrollo de un banco de reproductores de Róbalo (*Centropomus undecimalis*, Bloch 1792): I. Manejo del alimento. In: CONGRESO IBEROAMERICANO VIRTUAL DE ACUICULTURA CIVA, 4, p. 1-9, 2006. Comunicación Científica. Disponível em: <http://www.civa2006.org>. Acesso em: 20 set. 2007.
- HARVEY, B.J, and CAROLSFELD, J. 1993 Induced breeding in tropical fish culture. I.D.R.C. Ottawa, Canadá, 144 p.
- HOLT, G. J. and KLINE, R. 2009 Culturing Texas snook – What we have learned so far. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.

- MAZORRA, C.; BRUCE, M.; BELL, J.G.; DAVIE, A.; ALOREND, E.; JORDAN, N.; REES, J.; PAPANIKOS, N.; PORTER, M.; BROMAGE, N. 2003 Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 227: 21-33.
- MOURENTE, G.; MEGINA, C.; DÍAZ-SALVAGO, E. 2002 Lipids in female northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) during sexual maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24: 351–363.
- PANKHURST, N.W. and PORTER, M.J.R. 2003 Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 28, p. 385–389.
- RESLEY, M.; MAIN, K.; STUBBLEFIELD, J. 2009 An overview of common snook (*Centropomus undecimalis*) broodstock maturation and spawning research in Florida. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.
- REYES, R.; RAMOS, D.; FRAGA, I.; GALINDO, J.; ORTEGA, N. 2004 Creación de un banco de progenitores de Róbalo *Centropomus undecimalis*, Bloch. Evaluación de alimentos artificiales. In: CONGRESO IBEROAMERICANO VIRTUAL DE ACUICULTURA - CIVA, p. 814-820, 2004. Comunicación Científica... Disponible en: <<http://www.civa2004.org>> Acceso en: 10 marzo 2006.
- ROBERTS Jr. and R. 1987 Induced maturation and spawning of common snook, *Centropomus undecimalis*. In: ANNUAL GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE, 38., Trois-Islets, Martinique, 1985, Proceedings... p. 222-230, Miami, Florida 1987.
- SÁNCHEZ, A.; GÓMEZ, L.M.; GARCÍA, T.; SUÁREZ, C.R.; GAXIOLA, G. 2002 Maturation and spawning of common snook: First experiences in Southeast Mexico. *World Aquaculture Magazine*, 33(1): 62-65.

- SANCHEZ-ZAMORA, A. 2009. Status of the common snook reproduction in captivity at UMDI, UNAM, Sisal, UNAM, Yucatán, México. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.
- SOLIGO, T.A.; FERRAZ, E.M.; CERQUEIRA, V.R.; TSUZUKI, M.Y. 2008 Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura II. Edição José Eurico Possebon Cyrino, João Donato Scorvo Filho, Luis André Sampaio e Ronaldo Olivera Cavalli – Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, 2008. p. 143 – 152.
- SORBERA, L.; MYLONAS, C. C.; ZANUY, S.; CARRILLO, M.; ZOHAR, Y. 1996 Sustained administration of GnRHa increases milt volume without altering sperm counts in the sea bass. *The Journal of Experimental Zoology*, 276: 361-368.
- SUQUET, M; BILLARD, R.; COSSON, J.; DORANGE, G.; CHAUVAUD, L.; MUGNIER, C.; FAUVEL, C. 1994 Sperm features in turbot (*Scophthalmus maximus*): a comparison with other freshwater and marine fish species. *Aquat. Living Resour.* 7: 283-294.
- TAYLOR, R.G.; GRIER, H.J.; WHITTINGTON, J.A. 1998 Spawning rhythms of common snook in Florida. *Journal of Fish Biology*, 53: 502-520.
- TAYLOR, G.T.; WHITTINGTON, J.A.; GRIER, H.J.; CRABTREE, R.E. 2000 Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coast of South Florida. *Fishery Bulletin*, 98: 612-624.
- TRIPPEL, E.A. e NEILSON, J.D. 1992 Fertility and sperm quality of virgin and repeat-spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) and associated hatching success. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 2118-2127.



- TRIPPEL, E.A. 2003 Estimative of male reproductive success of marine fishes. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 33: 81-113.
- TOCHER, D.R. 2003 Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11 (2): 107-184.
- YANES-ROCA, C. 2006 Hunsbandry and larval rearing of common snook (*Centropomus undecimalis*). Stirling, Scotland. 271 p. (Tese de Doutoramento em Phylosophy Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland).
- ZOHAR, Y. e MYLONAS C. C. 2001 Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99–136.

CAPÍTULO III – INDUÇÃO DA MATURAÇÃO SEXUAL DO ROBALO-FLECHA, *Centropomus undecimalis* EM CATIVEIRO: APLICAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE INDUÇÃO HORMONAL E DIFERENTES INDUTORES HORMONAIIS (17  $\alpha$  MT, LHRHa, HCG e FSH)

Revista: Modelo usado Boletim do Instituto de Pesca  
Enviado para publicação:

INDUÇÃO DA MATURAÇÃO SEXUAL DO ROBALO-FLECHA,  
*Centropomus undecimalis* EM CATIVEIRO: APLICAÇÃO DE  
DIFERENTES PROTOCOLOS DE INDUÇÃO HORMONAL E  
DIFERENTES INDUTORES HORMONAIS ( $17\alpha$  MT, LHRHa, HCG  
e FSH).

Eduardo de Medeiros FERRAZ<sup>1,2</sup>; Vinicius Ronzani CERQUEIRA<sup>3</sup>

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi examinar diferentes protocolos hormonais na maturação do robalo-flecha *Centropomus undecimalis*. Experimentos foram conduzidos para dois ciclos reprodutivos consecutivos. Em 2007/2008, 54 reprodutores (peso  $2818 \pm 566$  g e comprimento  $671 \pm 41$  mm) foram induzidos: (1) implantes  $17\alpha$  MT; (2) implante  $17\alpha$  MT + implante LHRHa e (3) implantes sem hormônio (controle). No mês de março, um mês após os implantes, os tratamentos  $17\alpha$  MT e controle tinham 100% de machos e  $17\alpha$ MT+implante LHRHa 89% eram machos. Não foram observadas diferenças para os tratamentos 1,2 e 3, no mês de março, respectivamente para espermição (78, 78 e 61%) e volume de sêmen (22, 37 e 18  $\mu$ L) entre os tratamentos e o controle. Duas fêmeas foram identificadas com ovócitos não vitelogênicos. Em 2008/2009, 36 reprodutores distribuídos (peso médio  $3040 \pm 578$  g e comprimento  $685 \pm 39$  mm) foram induzidos com terapia crônica: (1) cinco doses de HCG/semana; (2) duas doses de FSH/semana + três doses de HCG/semana e (3) cinco doses de solução salina (controle)/semana. Fêmeas foram submetidas a cinco doses de HCG/semana e dose definitiva na sexta semana. Os tratamentos não foram efetivos em melhorar a maturação dos machos, indicado por um fraco desempenho para espermição e sêmen coletado. Mas uma das fêmeas, apresentou ovócito vitelogênico (150  $\mu$ m). Os resultados para os dois ciclos reprodutivos analisados indicam um complexo bloqueio reprodutivo para a espécie, mas que outros tratamentos hormonais podem ser examinados para a maturação da espécie.

Palavras-Chave: *Centropomus undecimalis*, maturação, implante hormonal, dose crônica,  $17\alpha$  metiltestosterona, LHRHa, FSH, HCG.

INDUCTION OF SEXUAL MATURATION OF COMMON SNOOK,  
*Centropomus undecimalis* IN CAPTIVITY: APPLICATION OF  
DIFFERENT PROTOCOLS OF INDUCTION HORMONAL AND  
DIFFERENT INDUCTORS HORMONALS (17  $\alpha$  MT, LHRHa, HCG  
and FSH).

ABSTRACT

The objective of this work was to examine different hormonal protocols in the maturation of common snook *Centropomus undecimalis*. Experiments had been lead for two consecutive reproductive cycles. In 2007/2008, 54 broodstocks (weight  $2818 \pm 566$  g and  $671$  length  $\pm 41$  mm) had been induced: (1) 17 $\alpha$  MT implantations; (2) implantation 17  $\alpha$  MT+ LHRHa implantation and (3) implantations without hormone (control). In March, one month after the implantations, 17 $\alpha$  MT treatments and control had 100% of males and 89% in 17 $\alpha$  MT + implantation LHRHa was male. Differences for treatments 1,2 and 3 had not been observed, in the month of March, respectively for spermiation (78, 78 and 61%) and amount of milt (22, 37 and 18  $\mu$ L) between the treatments and the control. Two females had been identified with not vitellogenic oocytes. In 2008/2009, 36 broodstocks (average weight  $3040 \pm 578$  g and  $685$  length  $\pm 39$  mm) they had been induced with chronic therapy: (1) five doses of HCG/week; (2) two doses of FSH/week + three doses of HCG/week and (3) five doses of saline solution (control)/week. Females had been submitted the five doses of HCG/week and definitive dose in the sixth week. The treatments had not been effective in improving the maturation of the males, indicated for a weak performance for spermiation and collected milt. But, one of the females presented vitellogenic oocytes (150  $\mu$ m). The results for the two analyzed reproductive cycles indicate a complex reproductive blockade for the species, but that other hormonal treatments can be examined for the maturation of the species.

Key words: *Centropomus undecimalis*, maturation, hormone implant, chronic therapy, 17  $\alpha$  methyltestosterone, FSH.

## 1- INTRODUÇÃO

O processo de confinamento de reprodutores de peixes ocasiona falhas no processo de maturação e desova para varias espécies de cultivo, decorrentes de mudanças bióticas e abióticas em função da nova estrutura de manutenção (BROMAGE *et al.*, 2001). Muitas vezes, a utilização de indutores hormonais, que atuam no ciclo reprodutivo é suficiente para solucionar a maioria das disrupturas verificadas. Por outro lado, ZOHAR e MYLONAS (2001) comentaram que espécies do gênero *Anguilla* em condições de cativeiro apresentaram falhas severas no ciclo reprodutivo, onde as fêmeas não alcançam a vitelogênese e os machos a espermatogênese. Contudo, protocolos desenvolvidos para enguia japonesa, *Anguilla japonica*, baseados na aplicação de múltiplas doses de hormônios gonadotróficos, foram efetivos para induzir a maturação e desova da espécie, apesar do grande estresse ocasionado aos animais resultante do manejo excessivo (OTHA *et al.*, 1997).

O emprego de novas tecnologias para a indução hormonal, e de indutores hormonais cada vez mais potentes e específicos, tem mostrado ser essa a provável solução para a maturação e desova para algumas espécies de peixes marinhos de interesse para o cultivo. Segundo MYLONAS e ZOHAR (2001), protocolos para maturação e desova foram desenvolvidos a partir de sistemas de liberação prolongada, que ajudam na permanência de hormônios reprodutivos na circulação sanguínea do animal.

O robalo-flecha, *C. undecimalis* em condições de cativeiro, apresenta problemas semelhantes aos observados para espécies do gênero *Anguilla*. Sua reprodução, na maioria das vezes é feita com a captura de reprodutores selvagens maduros. No Brasil, SOLIGO *et al.* (2008) verificaram limitada produção de sêmen de animais mantidos em cativeiro e induzidos à maturação com o hormônio liberador do hormônio luteinizante, observando baixa fertilização. FERRAZ e CERQUEIRA (2010 no prelo) verificaram o mesmo problema para animais mantidos em diferentes regimes de temperatura.

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a maturação do robalo-flecha em condições de cativeiro com o emprego de diferentes hormônios, com base na liberação prolongada a partir de matrizes de elastômero, e também em protocolos com múltiplas injeções.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Os indivíduos e seu sistema de confinamento

Foram utilizados robalos-flecha juvenis capturados no litoral da Bahia (município de Santo Amaro) e transportados para as instalações do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina, no município de Florianópolis – SC, em 1999. Os animais foram criados em tanques-rede em viveiro com água salobra e influência de maré. Foram alimentados com ração comercial para peixes carnívoros (40-50% de proteína).

Foram transferidos no ano de 2003 para tanques de concreto de 8.000 L com água marinha (35-36‰) e sistema de filtragem biológica interno, localizados no interior de duas salas utilizadas na manutenção de reprodutores, no LAPMAR. Estas salas foram adaptadas para operar com sistema de controle do fotoperíodo natural simulado (FNS) desde julho de 2006 em relação a dados obtidos para a região (Latitude: 27°36'S, Longitude: 48°37'W, fonte EPAGRI). A intensidade luminosa obtida na superfície da água foi de 1000 Lx utilizando 4 lâmpadas fluorescentes de 32 W .

O alimento consistia de 50% de um produto comercial seco (fish breed M INVE<sup>®</sup> Alimentos) e 50% de parte úmida (30% sardinha moída e 20% de lula moída). A taxa de alimentação foi de 1% do peso vivo por dia, de três a cinco vezes por semana.

A temperatura (°C), a salinidade (‰) e o oxigênio dissolvido (mg L<sup>-1</sup>) foram medidos diariamente, e a amônia total (mg L<sup>-1</sup>) e o pH, duas vezes por semana. Os valores observados no período foram, respectivamente, de: temperatura 20,5 – 27,7 °C, salinidade 35 – 36 ‰, pH 8,0, oxigênio 4,7 – 7,2 mg L<sup>-1</sup> e amônia 0–0,23 mg L<sup>-1</sup>.

## 2.2 Desenho experimental:

### 2.2.1 O uso de 17 $\alpha$ -metiltestosterona (MT) e do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRHa).

54 reprodutores foram utilizados no período reprodutivo do verão 2007/2008 de novembro a abril, com peso médio = 2.818,0  $\pm$  566,0 g e comprimento médio = 671,0  $\pm$  410,0 mm, identificados através de microchip eletrônico (AVID). Estavam distribuídos em seis tanques de 8000 L (3,1 kg.m<sup>-3</sup>), com renovação de água marinha (1 L/10 s) e aeração constante. No início do experimento, um indivíduo identificado como fêmea no período reprodutivo anterior foi acrescentado em um dos tanques e não foi submetido ao tratamento hormonal.

Peletes foram moldados com o elastômero (Silastic® MDX4-4210 Biomedical Grade Elastomer Dow Corning) com auxílio de “paillets” de inseminação artificial de 0,5 mL. Os hormônios LHRHa e  $17\alpha$ -metiltestosterona foram misturados separadamente ao elastômero e ainda na forma líquida aspirados para as “paillets”. Hastes cilíndricas dos hormônios foram moldadas e seccionadas em função do peso de cada reprodutor. Algumas hastes foram moldadas com o elastômero sem o hormônio.

Os reprodutores foram submetidos a três tratamentos hormonais: 1) implantes com  $17\alpha$ -metiltestosterona ( $4 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) + implantes sem hormônio, 2) implantes com  $17\alpha$ -metiltestosterona ( $4 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) + implante com LHRHa ( $50 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) e 3) implantes sem hormônio (controle). A dose usada para  $17 \alpha$ -metiltestosterona teve como base o trabalho de HASSIN *et al.* (2000) e a dose de LHRHa foi a utilizada para desova do robalo-peva (FERRAZ *et al.*, 2002).

Os implantes do elastômero foram colocados no início de fevereiro, para tanto os animais foram sedados com benzocaína ( $60 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e submetidos a uma incisão com bisturi na região abdominal, próximo da nadadeira peitoral. Os peletes foram introduzidos na cavidade abdominal com auxílio de uma pinça de ponta fina e curva. Para a definição das dosagens dos hormônios, utilizou-se o peso dos animais obtido no mês de dezembro, e as hastes cilíndricas de cada hormônio foram cortadas e pesadas para se obter a quantidade desejada.

### 2.2.2 O uso do hormônio gonadotrófico coriônico humano (HCG) e do hormônio folículo estimulante (FSH).

No período reprodutivo do verão 2008/2009, 46 animais foram redistribuídos (peso médio =  $3040,0 \pm 578,0 \text{ g}$  e comprimento médio =  $685,0 \pm 390,0 \text{ mm}$ ) em seis tanques de 8000 L de capacidade (sete ou oito por unidade  $2,8 \text{ kg.m}^{-3}$ ) como descrito no experimento anterior.

Destes, 36 machos foram selecionados e submetidos a três tratamentos hormonais, que iniciaram em 15/02/09: 1) doses semanais de HCG ( $250 \text{ UI.kg}^{-1}$ ) por quatro semanas e uma dose definitiva de 500 UI (HCG) na quinta semana, denominado de tratamento (HCG), 2) dose de FSH de  $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Folltropin-V Bioniche – Canadá) e na semana seguinte mais uma dose de  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , nas três semanas seguintes foram aplicadas doses de HCG ( $250, 250$  e  $500 \text{ UI.kg}^{-1}$ ), denominado tratamento (FSH e HCG), 3) tratamento (controle), os animais foram induzidos apenas com solução salina em todas as semanas conforme os tratamentos anteriores. Trinta e seis horas após a aplicação da última

dose, os animais foram examinados para verificação de evolução do desenvolvimento das gônadas.

As duas únicas fêmeas do plantel foram submetidas a doses semanais de HCG ( $250 \text{ UI.kg}^{-1}$ ) por cinco semanas consecutivas e uma dose definitiva de  $500 \text{ UI.kg}^{-1}$  na sexta semana.

Para administração dos hormônios, os animais foram anestesiados com benzocaína ( $60 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e a injeção foi aplicada na região dorsal da musculatura acima da linha lateral. Para definição das dosagens, utilizou-se o peso obtido no mês de fevereiro.

### 2.3 Análise do desenvolvimento gonadal dos reprodutores

Os indivíduos foram anestesiados com benzocaína ( $60 \text{ mg L}^{-1}$ ), para determinação do comprimento total (C) em centímetros e do peso (P) em gramas ( $0,01 \text{ g}$ ). O fator de condição (K) foi calculado como  $(\text{P(g)}/\text{C(cm)}^3) \times 100$ .

O mesmo critério foi adotado para análise do desenvolvimento gonadal para os dois períodos reprodutivos analisados: para machos a liberação de sêmen, e no caso das fêmeas a coleta de ovócitos. Os animais anestesiados foram massageados na região ventral, no sentido crânio-caudal, para verificar a liberação de sêmen na papila genital. Uma seringa hipodérmica de  $1 \text{ mL}$  foi utilizada para medição do volume espermático. Volumes menores de sêmen foram aferidos com seringa com precisão em  $\mu\text{L}$  (Hamilton  $10\mu\text{L}$ ).

Na ausência de sêmen, na expectativa de ser uma fêmea, foram realizadas biópsias com catéter plástico ( $0,8 \text{ mm}$  de diâmetro interno), inserido no gonoduto (FERRAZ *et al.*, 2004). O material coletado foi examinado em estereomicroscópio. Havendo ovócitos, foi feita uma medição do seu diâmetro. A partir do número de indivíduos maduros em cada amostragem foi calculada a taxa de maturação sexual, em porcentagem.

### 2.4 Análise dos dados

Os diferentes tratamentos hormonais foram examinados para o período reprodutivo compreendido entre outubro de 2007 a maio de 2008 para o primeiro experimento e de fevereiro de 2009 a março de 2009 no segundo experimento. Os parâmetros de comprimento médio (mm), peso médio (g) e fator de condição foram comparados pela análise de medidas repetidas (ANOVA). Diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As médias são apresentadas  $\pm$  o desvio padrão (dp). Os dados de porcentagem de machos identificados e



machos espermiando observados no plantel foram transformadas para valores de arco-seno, para posterior aplicações análise de medidas repetidas (ANOVA). Os volumes de sêmen foram avaliados pela análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. O aplicativo Statistica® 7.0 foi utilizado para as análises.

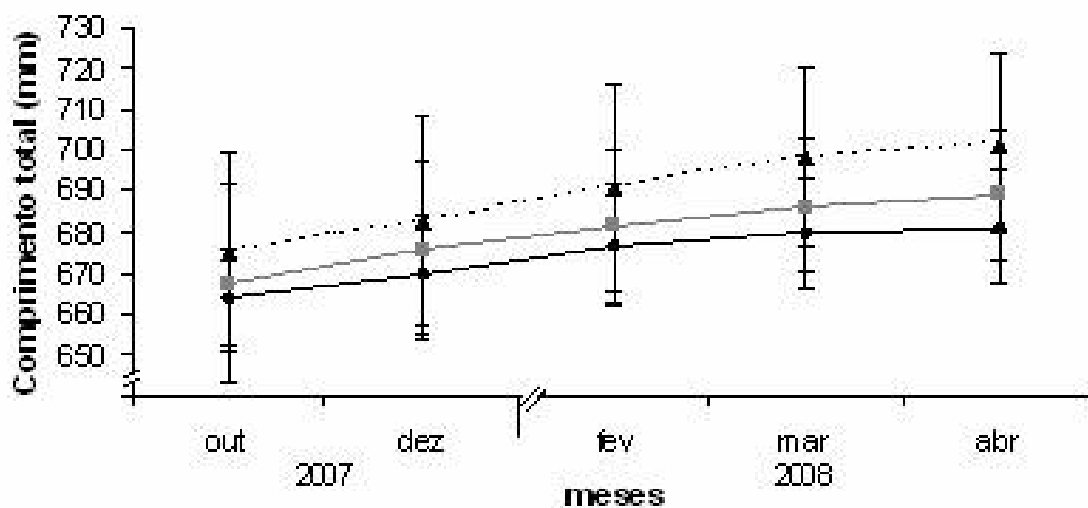
### 3. RESULTADOS

#### Experimento (2.2.1).

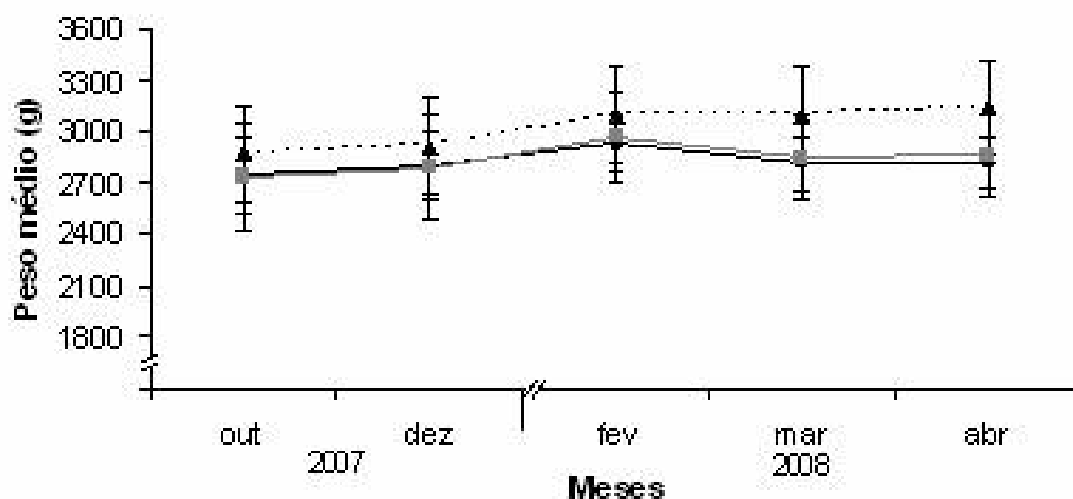
Os dados de crescimento foram similares aos observados no período reprodutivo anterior (FERRAZ e CERQUEIRA, 2010 no prelo). Por outro lado, foi nítida a influência do manejo dos animais no momento da aplicação dos peletes de elastômero, ocasionando uma diminuição da ingestão alimentar por mais de uma semana. Entretanto, este manejo foi o mesmo para todos os peixes.

Os gráficos apresentados na Figura 1 mostram o desempenho dos animais. Os tratamentos não resultaram em diferenças significativas ( $p>0,05$ ) para os parâmetros: comprimento, peso e fator de condição.

#### A) Comprimento total (mm)



#### B) Peso médio



### C) Fator de condição

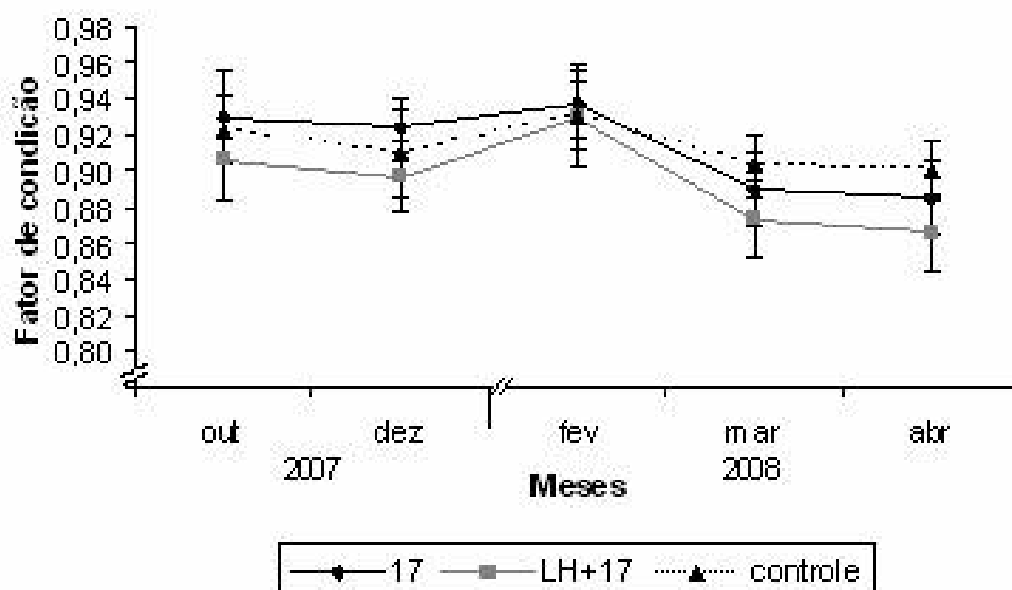


Figura 1. Comprimento total (A), peso (B) e fator de condição (C)  $\pm$  desvio padrão; para reprodutores do robalo-flecha *C. undecimalis* (n = 54) mantidos no verão 2007/2008.

A sobrevivência dos reprodutores no período foi de 98%, com a morte apenas de uma matriz, não sendo ocasionada pelo emprego dos tratamentos hormonais, mas por um evento relacionado ao retorno do animal após o emprego de anestesia.

A taxa de maturação sexual foi definida pela presença de machos no plantel com sêmen para o período estudado. Verificou-se nesta etapa que 96,0 % do plantel eram de machos (Figura 2) em relação aos 85,2% de indivíduos identificados anteriormente (FERRAZ e CERQUEIRA, 2010 no prelo).

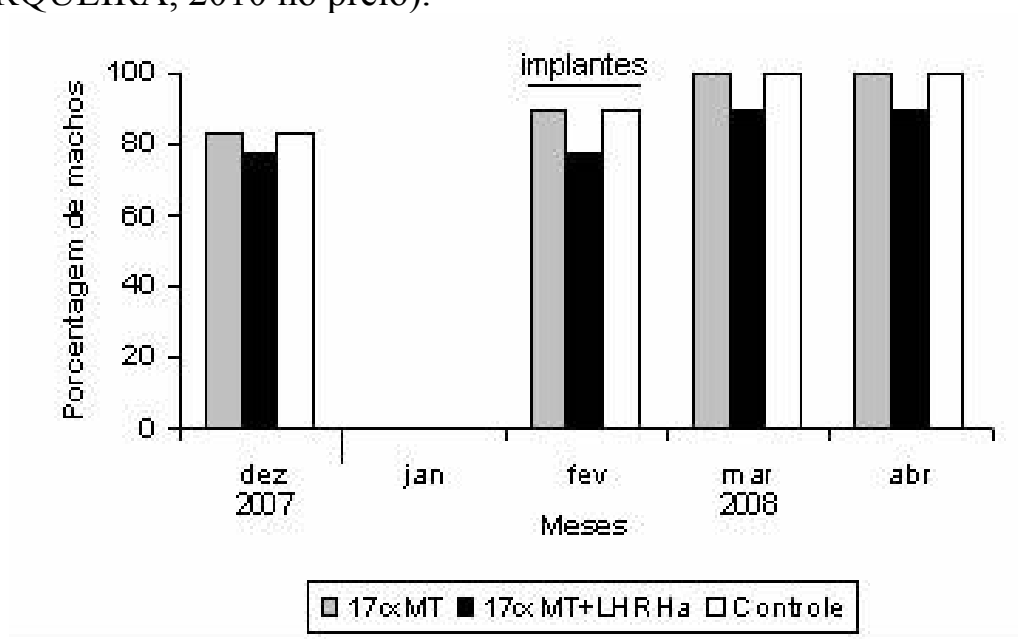


Figura 2. Porcentagem de machos do robalo-flecha *C. undecimalis* no período reprodutivo 2007/2008. O mês de dezembro corresponde aos animais previamente identificados no período reprodutivo 2006/2007.

O maior número de machos espermiando foi observado no mês de março (Figura 3) após aplicação dos tratamentos hormonais. No entanto, não se observou diferença significativa em relação aos tratamentos aplicados ( $p > 0,05$ ).

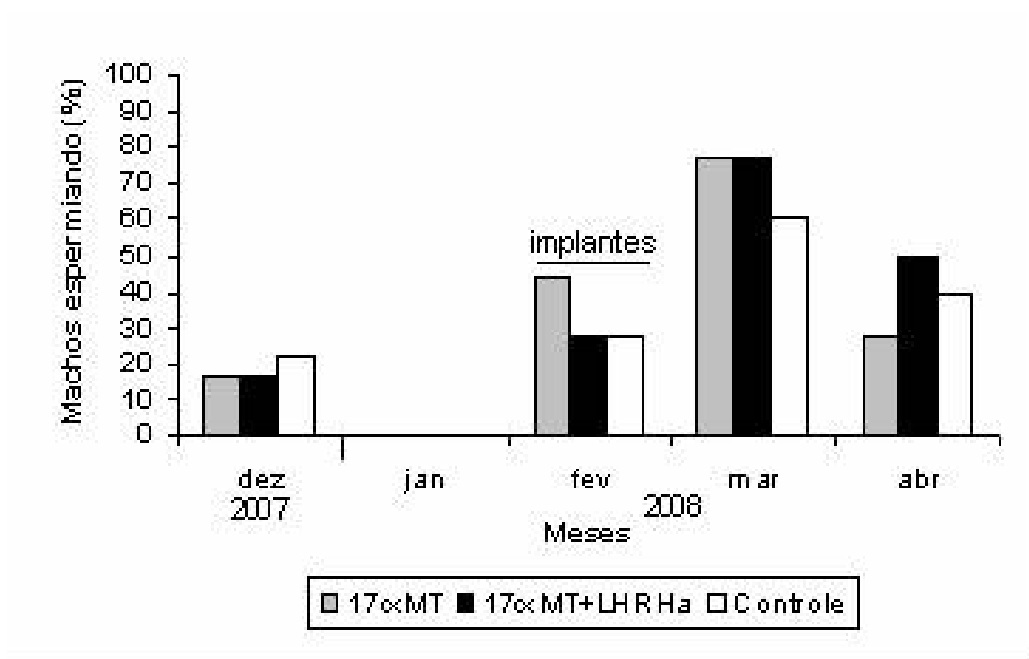


Figura 3. Proporção de machos espermiando do robalo-flecha *C. undecimalis* no verão 2007/2008 antes e após o implante com hormônios ( $17\alpha$  MT,  $17\alpha$  MT + LHRH e controle).

Em relação ao volume de sêmen, os maiores valores coletados também foram observados no mês de março, após a aplicação dos tratamentos hormonais. No entanto, o maior volume individual foi observado no mês de abril em um peixe do grupo controle ( $200 \mu\text{L}$ ). O tratamento ( $17\alpha$  MT + LHRH) apresentou volume de sêmen maior que os demais tratamentos no mês de março conforme o observado na Figura 4, no entanto não foi verificada diferença pela análise utilizada. Os meses de março e abril apresentaram o maior volume coletado de sêmen em relação aos valores observados em fevereiro no momento da aplicação dos implantes, mas o tratamento  $17\alpha$  MT em abril mostrou valores similares ao de fevereiro.

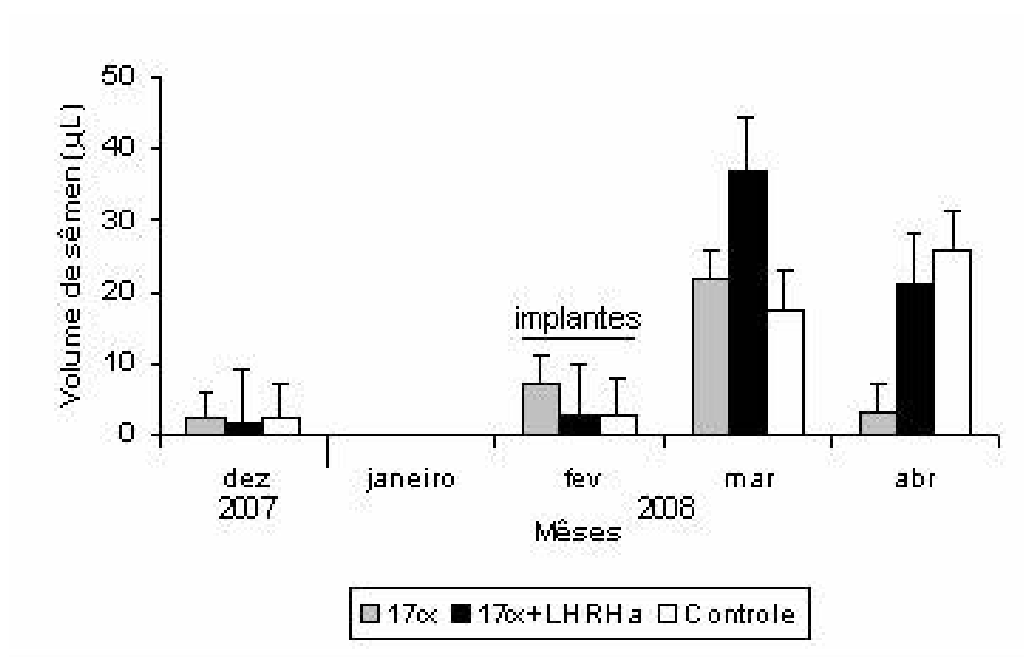


Figura 4. Volume de sêmen obtido para o robalo flecha *C. undecimalis* no verão 2007/2008 ( $\pm$  dp) antes e após aplicação dos tratamentos com pelete de MDX4 ( $17\alpha$  MT,  $17\alpha$  MT + LHRH e controle) em fotoperíodo natural simulado (FNS).

Além da fêmea inicialmente estocada, mais uma fêmea foi identificada no período reprodutivo 2007/2008. No entanto, o material coletado para os dois exemplares, não indicou a evolução dos ovócitos para um estágio mais avançado de desenvolvimento. O diâmetro médio amostrado ficou ao redor de 60  $\mu$ m (Figura 5), similar ao observado no período reprodutivo anterior. O aspecto translúcido deste material indicou não estar ocorrendo o acúmulo de vitelo característico do ovócito em desenvolvimento.

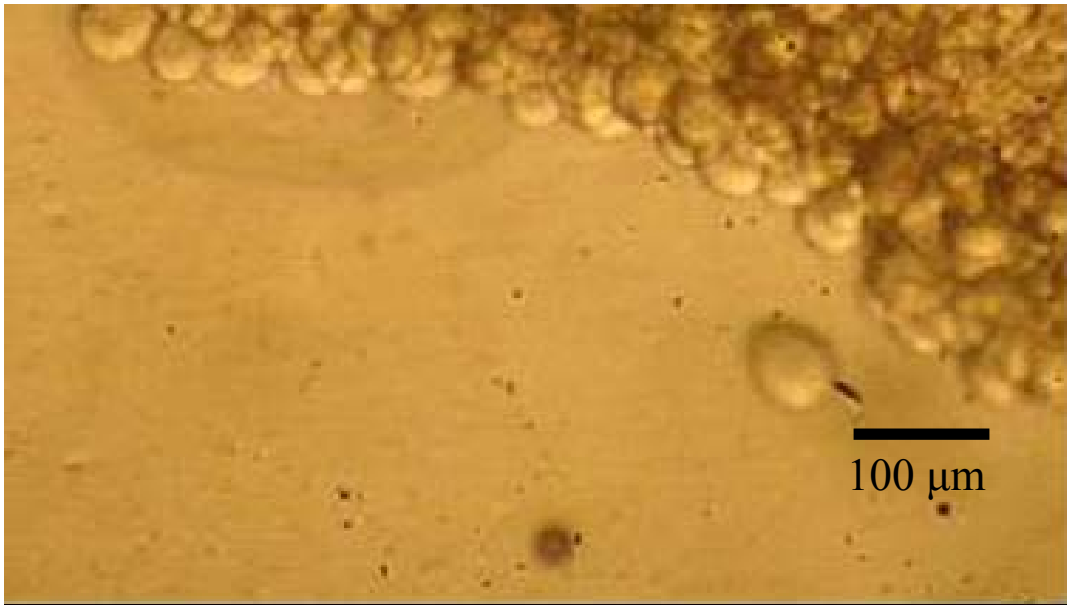


Figura 5. Amostra de ovócitos coletada de uma fêmea de robalo-flecha *C. undecimalis* em março de 2008. Barra = 100 micromêtros.

#### Experimento (2.2.2).

Dois peixes identificados como fêmeas em períodos reprodutivos anteriores foram induzidos por seis semanas consecutivas com HCG, tiveram amostras coletadas após cada indução. Na amostra coletada antes da quarta indução de uma das fêmeas foram observados ovócitos com diâmetro aproximado de 150  $\mu\text{m}$  (Figura 6), indicando vitelogênese. A outra fêmea, apresentou apenas ovócitos similares ao apresentado na Figura 5.

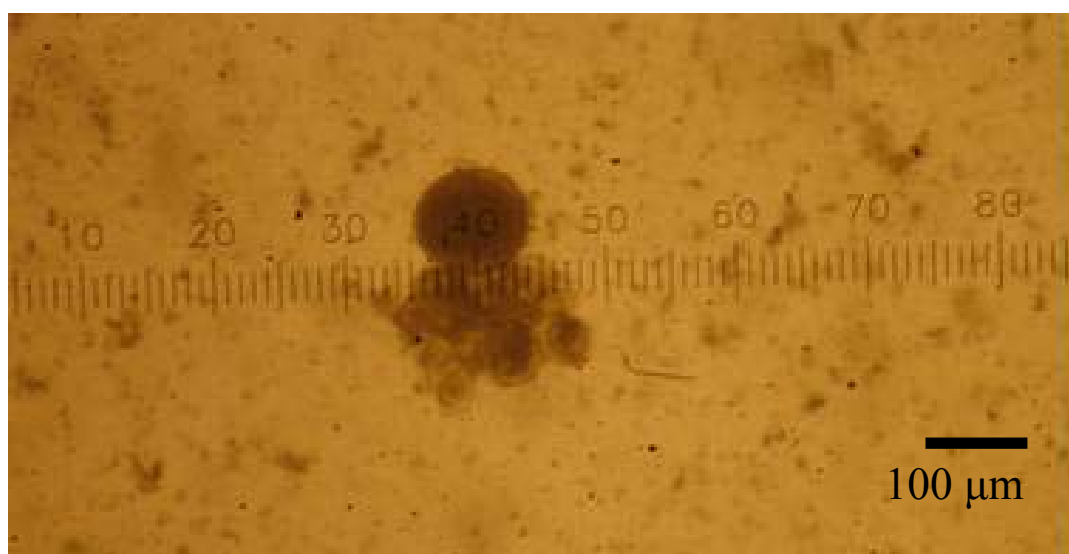


Figura 6. Amostra de ovócitos coletada de uma das fêmeas de robalo-flecha *C. undecimalis* em março de 2008 submetida a tratamento com HCG. Barra = 100 micrômetros.

As variações em crescimento para o período de fevereiro de 2009 a março de 2009 são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de crescimento no verão 2008/2009

Parâmetros	HCG	FSH + HCG	Controle
Peso inicial (g)	2934 ± 156	3104 ± 133	2902 ± 277
Peso final (g)	2949 ± 163	3132 ± 108	2932 ± 275
Comprimento inicial (mm)	680 ± 17	698 ± 20	678 ± 25
Comprimento final (mm)	689 ± 17	701 ± 14	686 ± 27
Fator de condição inicial	0,93 ± 0,05	0,90 ± 0,05	0,93 ± 0,05
Fator de condição final	0,90 ± 0,04	0,90 ± 0,02	0,91 ± 0,03

Dos 36 machos de robalo-flecha utilizados no período reprodutivo 2008/2009, cinco apresentaram em torno de 10 µL de sêmen, na primeira observação, antes do início do tratamentos hormonais. Em março, após o exaustivo protocolo de indução hormonal, os volumes de sêmen observados não foram maiores em nenhum dos animais. Dos quatro animais com espermiacão no mês de março, apenas um indivíduo do tratamento de FSH + HCG, não estava espermiando na primeira observação em fevereiro. Os demais foram os mesmos que estavam espermiando na primeira amostragem.

#### 4. DISCUSSÃO

Segundo BROMAGE *et al.* (2001), o fotoperíodo tem grande importância para animais de clima frio e temperado e o melhor desempenho reprodutivo pode ocorrer somente a partir do segundo ano de adaptação ao sistema de simulação da iluminação. ZOHAR e MYLONAS (2001) relatam e dizem que problemas reprodutivos podem diminuir com o tempo de domesticação dos animais, chegando a diminuir a intervenção através de agentes hormonais. Eles comentam, ainda, que problemas reprodutivos são normalmente mais sérios em reprodutores femininos, os mais graves conhecidos são os observados para a enguia (gênero *Anguilla*), a qual, é incapaz de alcançar a vitelogênese e espermatogênese quando mantidas em cativeiro. O sucesso obtido em anos recentes para a maturação em cativeiro da enguia através de tratamentos crônicos com hormônios, pode ser uma alternativa para o problema observado para as fêmeas do robalo-flecha no presente estudo.

Atualmente, tecnologias para aplicação hormonal estão sendo aprimoradas e são baseadas em implante de hormônios imersos em matrizes de colesterol, polímeros e elastômeros, a fim de se estender sua liberação (MYLONAS e ZOHAR, 2001). Os implantes liberam de maneira gradual, os hormônios imersos em sua matriz e com isso mantêm elevados os níveis da produção dos hormônios sexuais na circulação do animal. No presente trabalho, os hormônios 17  $\alpha$  metiltestosterona e LHRHa foram imersos no elastômero MDX4 e implantados no mês de fevereiro nos reprodutores masculinos. HERNANDEZ-RAUDA e ALDEGUNDE (2002) utilizaram MDX4 com 17  $\alpha$  metiltestosterona (MT) em machos juvenis de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, e verificaram níveis elevados de testosterona no plasma 20 dias após o início do tratamento. Segundo ZANUY *et al.* (1999), os esteróides sexuais podem atuar sobre a síntese e a liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), visto que a testosterona (T) tem uma grande influência sobre o controle da secreção de gonadotrofina (GtH), particularmente no final do ciclo reprodutivo. A “T” pode estimular a secreção de GtH in vivo, bem como aumentar o conteúdo de GnRH no cérebro e hipófise, e a concentração de GtH-II (LH) na hipófise. Os autores verificaram para machos do sea bass, *Dicentrarchus labrax*, um aumento de aproximadamente 10 vezes dos níveis no plasma de GtH após 15 dias do implante de T em relação aos animais do grupo controle.



No verão 2007/2008, baseado na aplicação de indutores hormonais através de implantes, verificou-se ligeira influência sobre os pesos dos animais, que receberam os implantes com hormônio, em relação aos do controle no mês de março. O fator de condição diminuiu proporcionalmente em função desta queda do peso para coleta de março. Os valores de fator de condição foram semelhantes aos observados por FRAGA et al (2006), em Cuba, e são idênticos aos observados para a espécie por (FERRAZ e CERQUEIRA, 2010 no prelo) . Uma relação possível para a queda do peso e do fator de condição poderia ser explicada pela própria produção espermática, visto que, no mês de março como esperado foram verificados os melhores resultados, tanto para número de animais espermiando, como no aumento do volume de sêmen coletado. Peixes marinhos geralmente acumulam reservas durante a maturação sexual antes do desenvolvimento das gônadas, esta reserva é subsequentemente usada como energia metabólica durante a migração (MOURENTE et al., 2002).

GRIER e TAYLOR (1998) verificaram que no desenvolvimento dos testículos do robalo-flecha capturados no litoral da Flórida verificaram valores de peso e comprimento dos testículos bastante variáveis em dois anos consecutivos de coleta, com picos descritos entre os meses de junho a agosto, no auge do verão para aquela latitude. Segundo os autores, o compartimento germinativo do testículo maduro tem uma estrutura lobular complexa, uma formação anastomosada lateral, em meio aos lóbulos, que produz caminhos múltiplos para a saída do esperma. Isto poderia justificar em parte, a dificuldade observada na liberação de sêmen dos reprodutores no presente trabalho. Em relação a maturação principalmente dos machos, no presente trabalho, três critérios foram adotados: primeiro através da taxa de maturação sexual; verificada pela observação que 96,0 % dos reprodutores eram machos com sêmen em comparação aos 85,2% observados em 2006/2007. Avanço da maturação para machos e fêmeas do peixe-leite, *Chanos chanos* são relatados por LEE et al. (1986a), LEE et al. (1986b) com melhores resultados observados, após implantes de  $17\alpha$  metiltestosterona + LHRHa em comparação ao implante de LHRHa sozinho. Por outro lado, TAMARU et al. (1988), não verificaram diferenças no avanço da maturação de machos do peixe-leite em relação ao controle após tratamento com  $17\alpha$ - metiltestosterona + LHRHa. HENRY et al. (1998) verificaram para salmões masculinizados que somente animais tratados com a testosterona + LHRHa foram capazes de acelerar a maturação. Para o “striped bass”, *Morone*

*saxatilis*, HASSIN *et al.* (2000) relataram que os níveis da unidade  $\beta$ FSH (GtH-I) em machos são elevados no início da espermatogênese, enquanto o pico da unidade  $\beta$ LH (GtH-II) ocorrem durante a espermição. Ainda para espécie HOLLAND *et al.* (2002) mostraram que tratamentos variando combinações de testosterona, GnRH $\alpha$  e pimizida, através de sistemas de liberação prolongada, não levaram ao aumento no número de machos iniciando a maturação, mas estimularam a espermatogênese para juvenis. MCGUREN *et al.* (2005) descreveram para o robalo-asiático, *Lates calcarifer*, a obtenção de bons resultados no avanço da maturação para fêmeas após aplicação de pelete com LHRH $\alpha$ , comentaram ainda que o emprego de pelete com 17 $\alpha$ -metiltestosterona para machos, resultou em boa desova confirmando a eficiência dos tratamentos para machos e fêmeas. Entretanto é importante salientar que o robalo-asiático não apresenta problema evidente para a maturação em cativeiro, ao contrário do robalo-flecha *C. undecimalis*.

O segundo critério foi em relação ao número de animais espermiando sendo que os resultados observados no mês de março, após aplicação dos tratamentos indicam uma resposta positiva para o uso dos hormônios. No entanto, apesar ser maior nos tratamentos (17 $\alpha$ MT e 17 $\alpha$ MT + LHRH $\alpha$ ), e o tratamento (17 $\alpha$  MT + LHRH $\alpha$ ) ter mantido, o maior número de animais espermiando no mês de abril, não foi verificada diferença em relação ao grupo controle.

O volume de sêmen coletado no período foi o terceiro critério para avaliação dos tratamentos hormonais. Apesar do tratamento 17 $\alpha$  + LHRH $\alpha$  ter apresentado os maiores volumes de sêmen no mês de março. No entanto, o volume de sêmen no mês de abril foi ligeiramente superior para o tratamento controle. Os valores de produção de sêmen verificados em março foram muito baixos e são bastante similares aos encontrados por (FERRAZ e CERQUEIRA, 2010 no prelo). SÁNCHEZ-ZAMORA (2009) comenta que o emprego de testosterona para o robalo-flecha no México, não resultou também em melhora significativa da produção de sêmen.

Dessa forma, a interpretação correta para o desempenho da maturação no período, é que ela foi pouco influenciada pelos tratamentos hormonais, ligeiramente melhor para o tratamento baseado no uso do esteróide sexual 17 $\alpha$  metiltestosterona, associado ao hormônio liberador do hormônio gonadotófico LHRH $\alpha$ .

No caso das fêmeas avaliadas no período, nenhum tratamento foi utilizado neste momento. Segundo YARON e SIVAN (2006), o

GnRH produzido no hipotálamo estimula a produção do hormônio folículo estimulante (FSH), que promove a secreção de estradiol 17 $\beta$  no folículo ovariano, este induz a produção de vitelogenina e coriongenina pelo fígado do animal. Dessa forma, pode-se imaginar que esta sequência não está ocorrendo no caso das fêmeas do robalo flecha nas condições examinadas. Apesar da identificação de mais uma fêmea no plantel foi evidente a deficiência no processo da vitelogênese, o aspecto translúcido do material coletado indica não estar ocorrendo o acúmulo de vitelo necessário para alcançar estágios mais avançados de desenvolvimento. O material coletado das duas fêmeas no período mostraram diâmetro médio dos ovócitos ao redor de 60  $\mu$ m (Figura 5), similar ao observado no período reprodutivo anterior e 2006/2007.

O segundo experimento utilizou a técnica de doses múltiplas do HCG conforme nos trabalhos feitos com machos da enguia japonesa, *Anguilla japonica* (OHTA *et al.*, 1997). Em cativeiro, a espécie têm ovários imaturos com ovócitos pré-vitelogênicos (YAMAMOTO e YAMAUCHI, 1974) e testículos imaturos com espermatogônias pré-mitóticas (MIURA *et al.*, 1991) devido a uma deficiência na síntese de gonadotrofina (GtH) (DUFOR *et al.*, 1983, 1988). A ativação da síntese de GtH nesta enguia pode ser induzida somente pelo tratamento com fatores exógenos da hipófise (hormônios como o HCG) (NAGAE *et al.*, 1997). Esta informação poderia ser utilizada de maneira similar para o robalo-flecha. Em relação às fêmeas do presente trabalho, até o momento, só foi detectada a presença de ovócitos em estágio pré-vitelogênico. Desta maneira, o resultado observado no segundo experimento, após três aplicações com HCG foi bastante interessante, visto que se observou, pela primeira vez, a presença de ovócitos vitelogênicos (Figura 6). Infelizmente, este resultado não se refletiu nas amostragens seguintes. OHTA *et al.* (1997) obtiveram fêmeas maduras da enguia japonesa *A.japonica*, após aplicações semanais (9–12 semanas) de extrato de hipófise de salmão (20 mg por peixe por semana). PEDERSEN (2003) descreveu um protocolo de até 24 semanas de injeções de extrato de hipófise de salmão obtendo também a maturação desta espécie. Já VIDAL *et al.* (2004) verificaram para enguia européia, *Anguilla anguilla*, que tratamento triplo com testosterona, GnRH $\alpha$  e pimozida causou um aumento acentuado na síntese de GtH e assim induziu o aumento dos níveis de vitelogenina no plasma.

Este tipo de protocolo, baseado em múltiplas doses hormonais, pode não ser o mais adequado para peixes do porte do robalo-flecha. A cada semana, os animais foram submetidos a manejos de troca de água

dos tanques e anestesia para aplicação hormonal. Nas fêmeas, ainda realizou-se coleta de ovócitos antes de cada aplicação hormonal. O fato dos machos não terem respondido positivamente a este protocolo poderia ser decorrente, pelo menos em parte, de todo este manejo. Entretanto, resultados positivos para estimulação da espermição com múltiplas doses de hormônio gonadotrófico foram obtidos para enguia japonesa (OHTA *et al.*, 1997) e para enguia européia (VIDAL *et al.*, 2004).

Como conclusão para o primeiro experimento, a combinação do sistema de liberação prolongada e dos hormônios incrementou a produção de sêmen, mas não pode ser considerada a solução definitiva para a maturação de machos do robalo-flecha.

No segundo experimento, o tratamento crônico com HCG resultou na presença de ovócitos na fase inicial de vitelogênese em uma das fêmeas, mas não foi suficiente para alcançar os estágios finais de vitelogênese, maturação final e desova. Os tratamentos crônicos com HCG tiveram pouco efeito nos machos examinados.

Os resultados do presente trabalho representam um significativo avanço na obtenção de machos maduros. Entretanto, também indicam que novos protocolos para estimular a maturação, sobretudo de fêmeas, deverão ainda ser desenvolvidos utilizando tanto fatores ambientais, quanto hormonais.

#### AGRADECIMENTOS:

Aos técnicos e colegas de trabalho do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), a José Luiz Pedreira Mouriño pela ajuda nos tratamentos estatísticos, e a pesquisadora Patricia de Paiva pela leitura e sugestões.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, 197:63-98, 2001.
- DUFOUR, S.; LE BELLE, N.; FONTAINE, Y.A. 1983 Development of a heterologous radioimmunoassay for eel (*Anguilla anguilla*) gonadotropin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49: 404– 413.
- DUFOUR, S.; LOPEZ, E.; LE MENN, F.; LE BELLE, N.; BALOCHE, S.; FONTAINE, Y.A. 1988 Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development, by administration of a gonadoliberin agonist and of dopamine antagonists, in female silver eel pretreated with estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 70:20–30.
- FERRAZ, E.M.; CERQUEIRA, V. R.; ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CANDIDO, S. 2002 Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 28: 125-133.
- FERRAZ, E.M.; ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CERQUEIRA, V. R.; CANDIDO, S. 2004 Validation of an ovarian biopsy method for monitoring oocyte development in the fat Snook, *Centropomus parallelus* Poey, 1860 in captivity. *Brazilian Archives of Biology And Technology*, 47 (4): 643-648.
- FERRAZ, E. M. e CERQUEIRA, V. R. 2010 Influência de diferentes regimes térmicos na maturação sexual de machos do robalo-flecha *Centropomus undecimalis*. No prelo. *Boletim do Instituto de Pesca*
- FRAGA, I.; REYES, R.; ORTEGA, N.J.; REGUEIRA, E.; FONT, R.; BRAVO, A. 2006 Desarrollo de un banco de reproductores de Róbalo (*Centropomus undecimalis*, Bloch 1792): I. Manejo del alimento. In: CONGRESO IBEROAMERICANO VIRTUAL DE ACUICULTURA CIVA, 4, p. 1-9, 2006. Comunicación Científica... Disponível em: <http://www.civa2006.org>. Acesso em: 20 set. 2007.

- GRIER, H.J. e TAYLOR, R.G. 1998 Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53; 521–542.
- HASSIN, S.; HOLLAND, M.C.H.; ZOHAR, Y. 2000 Early maturity in the male striped bass, *Morone saxatilis*: follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression and their regulation by gonadotropin-releasing hormone analogue and testosterone. *Biology of Reproduction*, 63: 1691–1697.
- HENRY, J.C., MCLEAN, E., MAYER, I., DONALDSON, E.M. 1998 Induction of precocious maturation in masculinized Atlantic salmon by treatment with sustained-release LHRHa and testosterone, *Aquaculture International*, 6: 261–268.
- HERNANDEZ-RAUDA, R. e ALDEGUNDE, M. 2002 Effects of acute 17 $\alpha$ -methyltestosterone, acute 17 $\beta$ -estradiol, and chronic 17 $\alpha$ -methyltestosterone on dopamine, norepinephrine and serotonin levels in the pituitary, hypothalamus and telencephalon of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Comp Physiol B.*, 172, 659–667.
- HOLLAND, M.C.H.; HASSIN, S.; ZOHAR, Y. 2002 The effects of long-term testosterone, gonadotropin-releasing hormone agonist and pimozide treatments on testicular development and luteinizing hormone levels in juvenile and early maturing striped bass, *Morone saxatilis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 129, p. 178–187.
- LEE, C.S.; TAMARUA, C.S.; BANNO, J.E.; KELLEY, C.D.; BOCEK, A.; WYBANA, J.A. 1986a Induced maturation and spawning of milkfish, *Chanos chanos* Forssakal, by hormone implantation. *Aquaculture*, 52:99-205.
- LEE, C.S.; TAMARUA, C.S.; BANNO, J.E.; KELLEY, C.D.; BOCEK, A.; WYBANA, J.A. 1986b Influence of chronic administration of LHRH- analogue and / or 17  $\alpha$ - methyltestosterone on maturation in milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 59:147-159.
- MCGUREN, J.; GARRETT, R.; ELIZUR, A. 2005 Hormone implants accelerate maturation in barramundi. The State of Queensland (Department of Primary Industries and Fisheries). Disponível em:

<[www.dpi.qld.gov.au/aquaculturenews/#nav1](http://www.dpi.qld.gov.au/aquaculturenews/#nav1)>. Acesso em 20 março 2005.

- MIURA, T.; YAMAUCHI, K.; NAGAHAMA, Y.; TAKAHASHI, H. 1991 Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. *Zool. Sci.*, 8: 63–73.
- MOURENTE, G.; MEGINA, C.; DÍAZ-SALVAGO, E. 2002 Lipids in female northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) during sexual maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24, 351–363.
- MYLONAS, C. C. e ZOHAR, Y. 2001 Use of GnRH $\alpha$ -delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10:463–491.
- NAGAE, M.; ADACHI, S.; YAMAUCHI, K. 1997 Changes in transcription of pituitary glycoprotein hormone  $\alpha$  and gonadotropin II $\beta$  subunits during ovarian development induced by repeated injections of salmon pituitary homogenate in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17: 179–186.
- OHTA, H.; KAGAWA, H.; TANAKA, H.; OKUZAWA, K.; IINUMA, N.; HIROSE, K. 1997 Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 17: 163–169.
- PEDERSEN, B. H. 2003 Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilization of the eggs. *Aquaculture*, 224: 323–338.
- SANCHEZ-ZAMORA, A. 2009. Status of the common snook reproduction in captivity at UMDI, UNAM, Sisal, UNAM, Yucatán, México. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.
- SOLIGO, T.A.; FERRAZ, E.M.; CERQUEIRA, V.R.; TSUZUKI, M.Y. 2008 Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Cyrino, J. E. P., Scorvo Filho, J. D., Sampaio, L. A.; Cavalli, R.

O. (Eds) Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, 2008. p. 143 – 152.

TAMARU, C.S.; LEE, C.S.; KELLEY, C.D.; BANNO, J.E. 1988 Effectiveness of chronic LHRH-analogue and 17 $\alpha$ -methyltestosterone therapy, administered at different times prior to the spawning season, on the maturation of milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture*, 70:159-167.

VIDAL, B.; PASQUALINI, C.; LE BELLE, N.; HOLLAND, M.C.H.; SBAIHI, M.; VERNIER, P.; ZOHAR, Y.; DUFOUR, S. 2004 Dopamine inhibits luteinizing hormone synthesis and release in the juvenile european eel: a neuroendocrine lock for the onset of puberty. *Biology of Reproduction*, 71: 1491–1500.

YAMAMOTO, K. e YAMAUCHI, K. 1974 Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, Lond. 251: 220–222.

YARON, Z. e SIVAN, B. 2006 Reproduction. In: Evans, D.H., Clairbourne, J.B. (Eds.), *The Physiology of Fishes*. RC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, p. 343–386.

ZANUY, S.; CARRILLO, M.; MATEOS, J.; TRUDEAU, V.; KAH, O. 1999 Effects of sustained administration of testosterone in prepuberal sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. *Aquaculture*, 177: 21–35.

ZOHAR, Y. e MYLONAS C. C. 2001 Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99–136.



CAPÍTULO IV – EFEITO DA TEMPERATURA DE CULTIVO SOBRE O CRESCIMENTO E A PROPORÇÃO SEXUAL PARA ALEVINOS DO ROBALO-PEVA *Centropomus parallelus* POEY, 1860.

Revista: Modelo usado Boletim do Instituto de Pesca  
Enviado para publicação:

EFEITO DA TEMPERATURA DE CULTIVO SOBRE O  
CRESCIMENTO E A PROPORÇÃO SEXUAL PARA ALEVINOS DE  
ROBALO-PEVA *Centropomus parallelus* POEY, 1860.

Eduardo de Medeiros FERRAZ<sup>1,2</sup>; Gledson Carlos Sobreira  
CARVALHO<sup>3</sup>; Ana Lúcia Carneiro SCHAEFER<sup>4</sup>; Massuka Yamane  
NARAHARA<sup>1</sup>; Vinicius Ronzani CERQUEIRA<sup>5</sup>

RESUMO

Objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura sobre o crescimento e a possível mudança na proporção sexual do robalo-peva *Centropomus parallelus*. 540 peixes com 58 (DAE), peso médio  $0,042 \pm 0,018$  g e comprimento médio  $16,3 \pm 2,7$  mm foram distribuídos em nove tanques de 80 L. As temperaturas 20, 25 e 30 °C foram examinadas por um período de trinta dias, após o que, a temperatura da água de todos os tanques foi ajustada para 26°C por mais dois meses. Mensalmente, foram realizadas biometrias para determinação de peso (g), comprimento (mm), fator de condição (k) e taxa de crescimento específico (TCE). No final, os animais foram sacrificados e fixados para histologia das gônadas. Na primeira etapa do experimento, os animais mantidos nas temperaturas 25 e 30°C, apresentaram resultados superiores ( $p < 0,05$ ) para comprimento, peso, e TCE em relação aos mantidos em 20°C. Somente no final do experimento, após o equilíbrio das temperaturas, o tratamento 30°C mostrou-se superior ( $p < 0,05$ ) em relação a 25°C para peso, mas não para comprimento, (K) e (TCE), os animais da temperatura 20°C continuaram inferiores aos demais tratamentos para todos os índices examinados. O efeito da temperatura na mudança da proporção sexual não pode ser identificado e nenhuma fêmea foi observada nos três tratamentos. Nas condições examinadas, a temperatura de 30°C é indicada para o cultivo de alevinos no tamanho

---

<sup>1</sup> Pesquisador(a) do Instituto de Pesca, e-mail: emferraz@pesca.sp.gov.br

<sup>2</sup> Doutorando do programa de pós graduação em aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>3</sup> Graduado em Aqüicultura pela UFRN

<sup>4</sup> Mestre em Aqüicultura, Pesquisadora do NEPAQ – Núcleo de Estudo em Patologia Aquícola/AQI/CCA/UFSC

<sup>5</sup> Professor da Universidade Federal de Santa Catarina e coordenador do LAPMAR, e-mail: vrcerqueira@cca.ufsc.br

estudado, mas outros ensaios são necessários para verificar a possível interação da temperatura em relação à mudança da proporção sexual.

PALAVRAS CHAVE: temperatura, crescimento, proporção sexual, robalo, *Centropomus parallelus*.

EFFECTS OF REARING TEMPERATURE ON GROWTH AND SEX RATION FOR FRY OF FAT SNOOK *Centropomus parallelus* POEY, 1860.

ABSTRACT

Objective of this work was to evaluate the influence of the temperature on the growth and the possible change in the sexual ratio of fat snook. *Centropomus parallelus*. 540 fish with 58 (DAH), average weight  $0,042 \pm 0,018$  g and average length  $16,3 \pm 2,7$  mm had been distributed in nine tanks of 80 L. Temperatures 20, 25 and 30 °C had been examined by a period of thirty days, after what, the temperature of the water of all the tanks was adjusted for 26°C for more two months. Biometrias monthly had been carried through, for determination of weight (g), length (mm), condition factor (k) and specific growth ration (SGR). In the end, the animals had been sacrificed and fixed for histological analysis of the gonads. In the first stage of the experiment, the animals kept in temperatures of the 25 and 30°C, had presented resulted better ( $p < 0,05$ ) for length, weight, and TCE in relation to the kept ones in 20°C. Only in the end of the experiment, after the balance of the temperatures, the treatment 30°C revealed better ( $p < 0,05$ ) in relation 25°C for weight, but does not for length, (k) and (TCE), the animals of the temperature 20°C had continued to show minor indices for all the treatments examined. The effect of the temperature in the change of the sexual ratio cannot be identified and no female was observed in the three treatments. In the examined conditions, the temperature of 30°C is indicated for the culture of fry in the studied size, but other assays are necessary to verify the possible interaction of the temperature in relation to the change of the sexual ratio.

KEY WORDS: temperature, growth, sex ratio, fat snook, *Centropomus parallelus*.

## 1- INTRODUÇÃO

A melhoria da produção aquícola depende muitas vezes do desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a rentabilidade do cultivo e podem ser obtidas pelo emprego de pequenas mudanças para a escala produtiva. O ganho de peso de uma determinada espécie, por exemplo, pode ser aumentado com o emprego de rações mais adequadas, porém, isto pode depender, de condições favoráveis, como temperaturas adequadas de manutenção do organismo em cultivo. Segundo JIAN *et al.* (2003), a temperatura da água é considerada uma das variáveis ambientais mais importantes por afetar diretamente o metabolismo, consumo de oxigênio, crescimento e sobrevivência do organismo. BALDISSEROTO (2002) sugere que a tolerância, preferência de uma espécie a variações de temperatura pode ser verificada na prática pela exposição direta do organismo a diferentes gradientes. IMSLAND *et al.* (1996) verificaram para o turbot, *Scophthalmus maximus* de que juvenis com 25 a 75 g de tamanho encontram nas temperaturas de 16 a 19 °C seu ótimo para crescimento e já em animais com 100 g ou mais esta faixa está entre 13 a 16 °C. Desta maneira, o entendimento de como a temperatura pode afetar o crescimento é importante na escolha de espécie para o cultivo.

Candidato potencial para piscicultura marinha no Brasil, o robalo-peva, *Centropomus parallelus*, possui distribuição tipicamente tropical e subtropical, pela costa oriental americana, desde o sul da Flórida (EUA), passando pelo Golfo do México até Florianópolis, sul do Brasil (FRASER, 1978; RIVAS, 1986). São peixes bastante populares, principalmente na costa do Brasil, pelo alto valor de mercado e qualidade refinada da carne (CERQUEIRA 2002). No Brasil, principalmente em Santa Catarina, desde início da década de 90, estão sendo desenvolvidos trabalhos sobre cultivo da espécie, sendo verificados resultados promissores para reprodução em cativeiro, larvicultura e engorda (CERQUEIRA, 2002; ALVAREZ-LAJONCHÈRE e TSUZUKI, 2008; CERQUEIRA e TSUZUKI, 2009, CERQUEIRA, 2009). No entanto, em relação a engorda, novas informações sobre o crescimento da espécie são necessárias para consolidação do cultivo e devem ser investigadas de maneira a mitigar esforços para sua produção.

Atualmente, vários trabalhos relacionados ao robalo europeu *Dicentrarchus labrax*, mostram a temperatura como importante mecanismo para mudança na proporção sexual, produzindo maior número de fêmeas. BLÁSQUEZ *et al.* (2009) comentam que nos

vertebrados gonocorísticos a determinação do sexo ocorre através de dois principais mecanismos: determinação sexual do tipo genotípica, definida a partir da informação genética e determinação sexual dependente da temperatura (DST). A idéia de utilizar mecanismos para mudar a proporção sexual de sea bass, *D. labrax* deve-se ao fato de que no cultivo intensivo, a produção de machos é maior, sendo que muitos exemplares desenvolvem-se sexualmente muito cedo, resultando em peso corpóreo de 18-40% menor (CARRILLO *et al.* 1995; BLÁZQUES *et al.*, 1998). Desta forma, populações 100% fêmeas são as mais desejadas. No caso do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, a primeira maturação ocorre primeiro em machos do que em fêmeas (TAYLOR *et al.*, 1998). Além disso, a espécie é protândrica, primeiro ocorrendo como macho com a formação de testículos que são revertidos para ovários, tornando-se fêmeas, dependendo da idade e tamanho (TAYLOR *et al.*, 2000). Esta informação é pertinente também para o robalo-peva, *C. parallelus*.

Desta maneira, o presente trabalho tem por objetivo verificar o efeito de diferentes temperaturas no crescimento de alevinos do robalo-peva, *C. parallelus*, mas principalmente identificar se a utilização de diferentes temperaturas de cultivo pode exercer papel na modulação da diferenciação sexual e, com isto, mudar a proporção sexual em favor da produção de um maior número de fêmeas.

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Origem dos animais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina em Florianópolis, durante o período de março a junho de 2008.

Os alevinos de robalo-peva, *C. parallelus*, com 58 dias após-eclosão (DAE), obtidos através de reprodução induzida, foram mantidos em tanques de larvicultura com capacidade de 10,000 L, seguindo o protocolo descrito por ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.* (2002).

### 2.2. Delineamento experimental

No início do experimento, 540 peixes (comprimento total médio =  $16,3 \pm 2,7$  mm, e peso total médio =  $0,042 \pm 0,018$  g) foram distribuídos aleatoriamente em nove tanques de plásticos de 80 litros (densidade de 0,75 peixe por litro) e aclimatados por um período de sete dias. Uma outra parte deste lote com 50 animais e 58 DAE, após

sedação em solução de benzocaína ( $400 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi utilizada para biometria inicial com a determinação de pesos corpóreos individuais com aproximação até  $0,01 \text{ g}$ , e o comprimento total milímetros (mm), então fixados em solução de Davidson marinho sem ácido acético. 24 hs após as amostras foram transferidas para álcool 70% para posterior análise histológica.

O experimento constituiu-se de três tratamentos em triplicata, utilizando temperaturas  $5^\circ\text{C}$  abaixo e  $5^\circ\text{C}$  acima daquela do padrão para larvicultura do robalo-peva em Santa Catarina. Desta forma, no primeiro tratamento utilizou-se a temperatura da água do mar igual a  $20^\circ\text{C}$ , no segundo,  $25^\circ\text{C}$  e, no terceiro,  $30^\circ\text{C}$ . A manutenção da temperatura da água em  $20^\circ\text{C}$  exigiu ajuste através da refrigeração da sala com ar condicionado (aproximadamente  $20^\circ\text{C}$ ). Para manter constante a temperatura da água dos três tratamentos, foram utilizados aquecedores de  $200 \text{ W}$ , com termostatos eletrônicos, imersos na água. Na segunda etapa do trabalho, a temperatura da água de todos os tratamentos foi ajustada para  $26^\circ\text{C}$ , que é normalmente utilizada em trabalhos de larvicultura do LAPMAR. Para isso, a temperatura do ar condicionado da sala foi também controlada para  $26^\circ\text{C}$ . O fotoperíodo ajustado para o experimento foi de 12 h Luz : 12 h Escuro, e simulado por lâmpadas de mercúrio acionadas por timer digital.

Os animais foram alimentados com ração comercial contendo 57% de proteína (INVE), sendo ofertadas partículas de  $0,3 \text{ mm}$  no período de aclimatação e na primeira semana do experimento e, mescla de  $0,3$  e  $0,6 \text{ mm}$ , nas três semanas seguintes. O alimento foi ofertado até a saciedade dos animais, sendo o arraçoamento realizado, três vezes ao dia, em intervalos de quatro horas. Na segunda etapa do trabalho, os animais dos tratamentos ( $25^\circ\text{C}$ ) e ( $30^\circ\text{C}$ ) passaram a receber ração comercial extrusada, especial para peixes carnívoros (supra carnívoros 40% de proteína), sendo os peletes partidos para obtenção de granulometria adequada ( $1,0$  a  $1,5 \text{ mm}$ ). Os animais do tratamento ( $20^\circ\text{C}$ ) foram alimentados por mais duas semanas com ração INVE ( $0,6 \text{ mm}$ ) e farelo da ração da Supra carnívoros partida para aqueles dos tratamentos ( $25^\circ\text{C}$ ) e ( $30^\circ\text{C}$ ). A partir da terceira semana, os mesmos foram alimentados com a mesma ração fornecida para os demais tratamentos.

A qualidade da água nas unidades experimentais foi mantida pela manutenção de aeração constante e renovação completa do volume das unidades ( $80 \text{ L}$ ), maiores cuidados foram realizados, após cada alimentação, pela rápida eliminação dos restos de ração e das fezes por sifonamento.

Os controles dos parâmetros físicos e químicos da água para temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade são apresentados na tabela 1.

Variáveis	Tratamentos		
	T1 (20 °C)	T2 (25 °C)	T3 (30 °C)
Temperatura da água (°C) ± DP	20,1 ± 0,6	25,2 ± 0,5	30,0 ± 0,6
Oxigênio dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> ) ± DP	6,8 ± 1,1	6,9 ± 1,1	7,1 ± 1,3
Salinidade (g.L <sup>-1</sup> )	34-35	35	35

Tabela 1. Valores médios observados para parâmetros físicos e químicos da água na primeira etapa do experimento.

Durante o período experimental, nos meses de abril e maio, 15 animais por unidade experimental foram coletados, anestesiados em benzocaína (40 mg L<sup>-1</sup>), medidos e pesados. Em junho, 150 dias após a eclosão, todos os animais dos três tratamentos foram sedados em benzocaína (400 mg L<sup>-1</sup>) e sacrificados. Determinaram-se os pesos corpóreos individuais com aproximação até 0,01 g, e o comprimento total milímetros (mm). Posteriormente, os animais sacrificados foram seccionados com auxílio de bisturi na região da cabeça e da cauda deixando, a porção do abdômen que foi fixada em solução de Davidson marinho sem adição de ácido acético, e colocada em tubos de Falcon de 15 mL. Após 24 horas, retirou-se o material da solução de Davidson e substituiu-se por solução de álcool a 70%.

### 2.3 Preparação histológica:

Para análise das estruturas gonadais sob microscopia óptica, o material armazenado nos tubos Falcon teve a solução fixadora de Davidson substituída, após 24 horas, por álcool a 70%. Após este procedimento, foram submetidos às técnicas de rotina de inclusão em parafina e corte em micrótomo. Os cortes de 5 µm foram colocados em lâminas e corados com Hematoxilina de Harris e Eosina (HHE) e após este procedimento foram montados com lamínula e a resina adesiva Ery-Mount. Foram observados em microscópio óptico Olympus e fotografados.



## 2.4 Índices relativos as biometrias

Com os dados de peso e comprimento foram calculados fator de condição e taxa de crescimento.

- Taxa de crescimento específico (TCE%):  $(\ln P2 \times \ln P1) \times 100 / (t2 - t1)$ , onde P1 e P2 correspondem aos pesos dos peixes nos tempos t1 e t2, respectivamente, e (t2-t1) é o número de dias entre pesagens.

- Fator de condição:  $(P(g)/C(cm)^3) \times 100$ , onde “P” é o peso do corpo em gramas e “C” o comprimento total em centímetros.

Calculou-se ainda a taxa de sobrevivência utilizando-se os dados de frequência absoluta de indivíduos no início e final do experimento

- Sobrevivência:  $S = (nf / ni) \times 100$ ; onde nf é o número final de animais e ni o número inicial de animais.

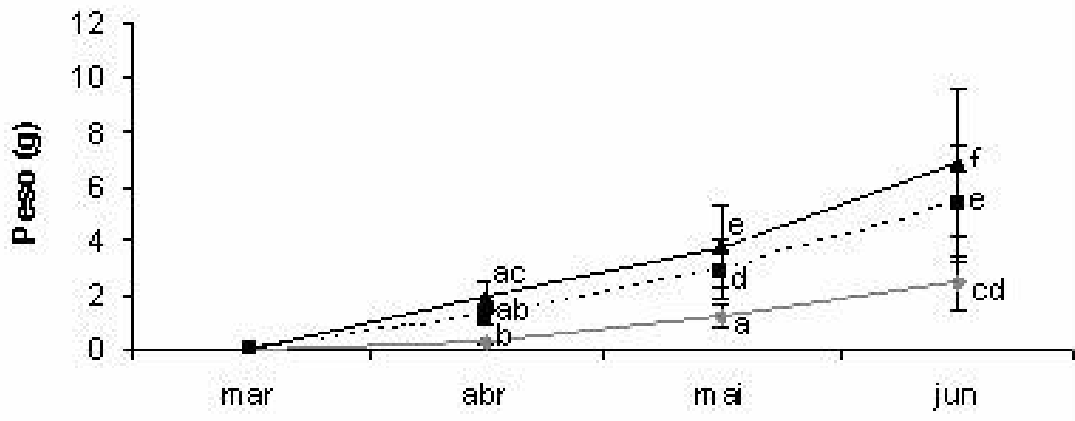
## 2.5 Análise estatística

Os parâmetros de comprimento médio (mm), peso médio (g) e fator de condição foram comparados pela análise de medidas repetidas (ANOVA). Diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. As médias são apresentadas  $\pm$  o desvio padrão (dp). Os dados de taxa de crescimento específico foram transformados para valores de arco-seno, para posterior aplicações análise de medidas repetidas (ANOVA). Quando encontrada diferença significativa aplicou-se o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. O aplicativo Statistica® 7.0 foi utilizado para as análises.

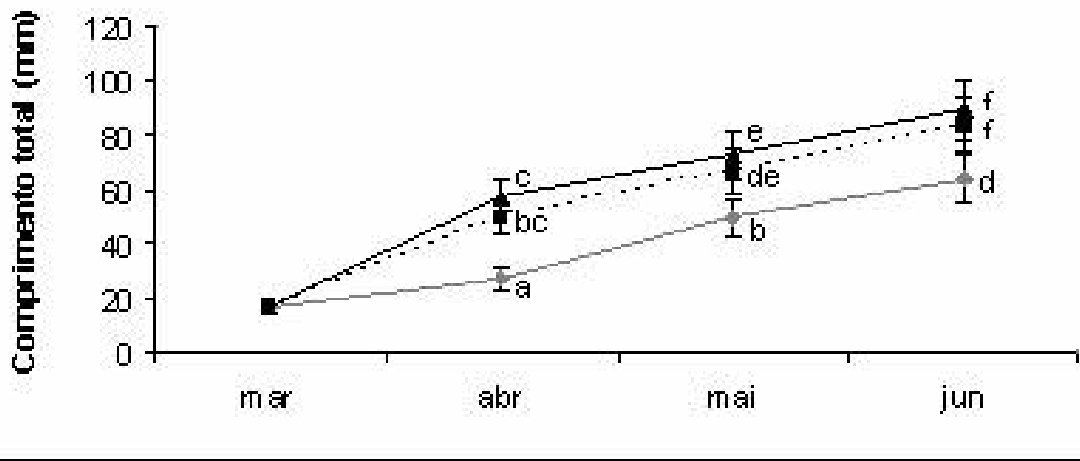
## 3 – RESULTADOS

Na primeira etapa do experimento, em abril, os valores médios de peso e comprimento total dos animais do (20°C) foram respectivamente iguais a  $0,24 \pm 0,09$  g e  $27,3 \pm 4,2$  mm, sendo significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) em relação aos do (25°C) ( $1,22 \pm 0,37$  g e  $49,5 \pm 5,7$  mm), e do (30°C) ( $1,89 \pm 0,55$  g e  $57,0 \pm 5,7$  mm). No entanto, o valor do fator de condição dos exemplares de (20°C) ( $1,12 \pm 0,18$ ) foi maior ( $p < 0,05$ ) em comparação ao de (25°C) ( $0,97 \pm 0,05$ ) e de (30°C) ( $0,99 \pm 0,06$ ). Em relação a TCE%, os indivíduos do (30°C) apresentaram valores superiores ( $p < 0,05$ ) ( $9,28 \pm 0,15$  %) aos de (25°C) ( $8,20 \pm 0,21$  %), que, por sua vez, foram maiores ( $p < 0,05$ ) que os do (20°C) ( $4,21 \pm 0,46$  %) (Figura 1).

A)



B)



C)

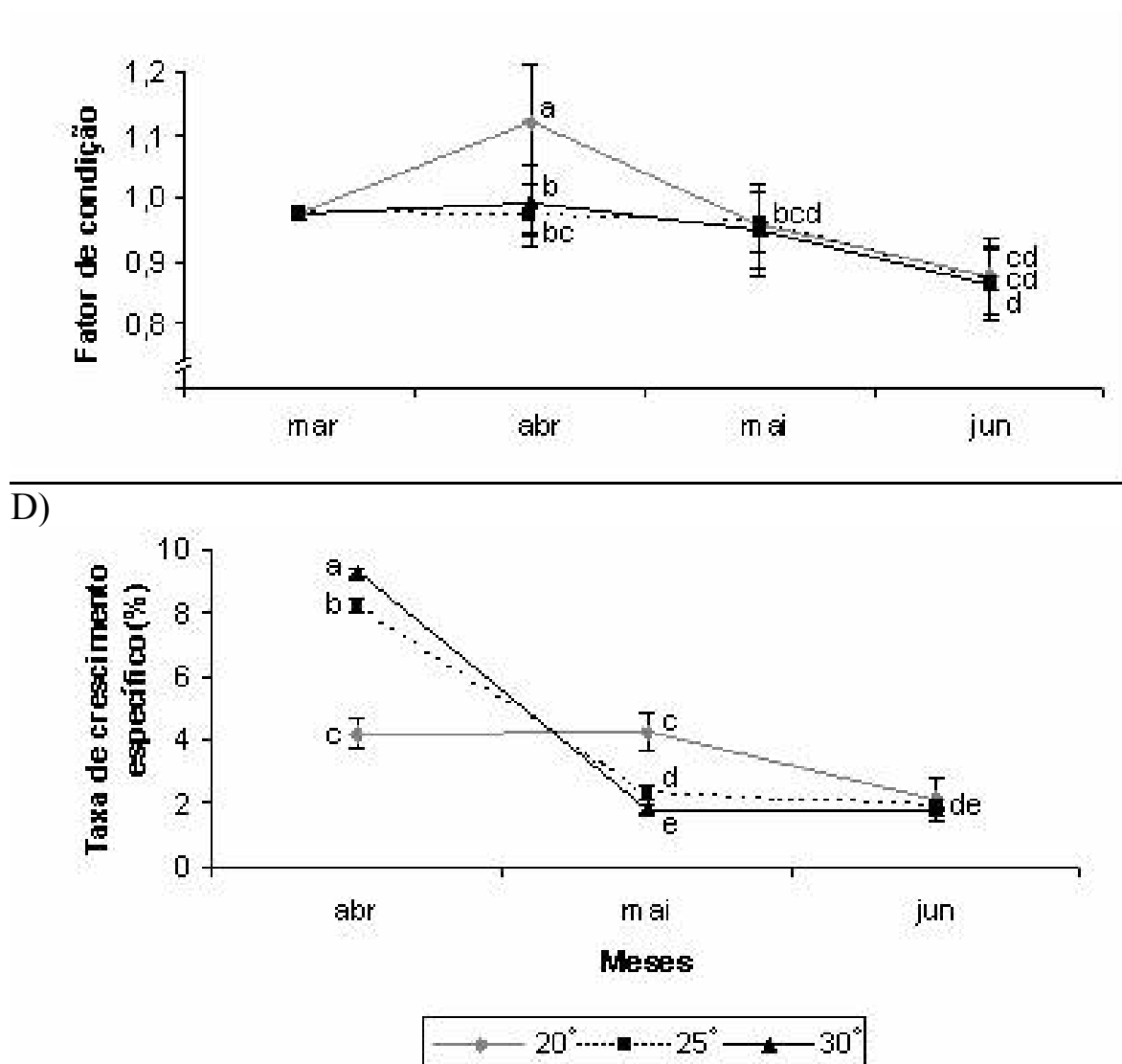


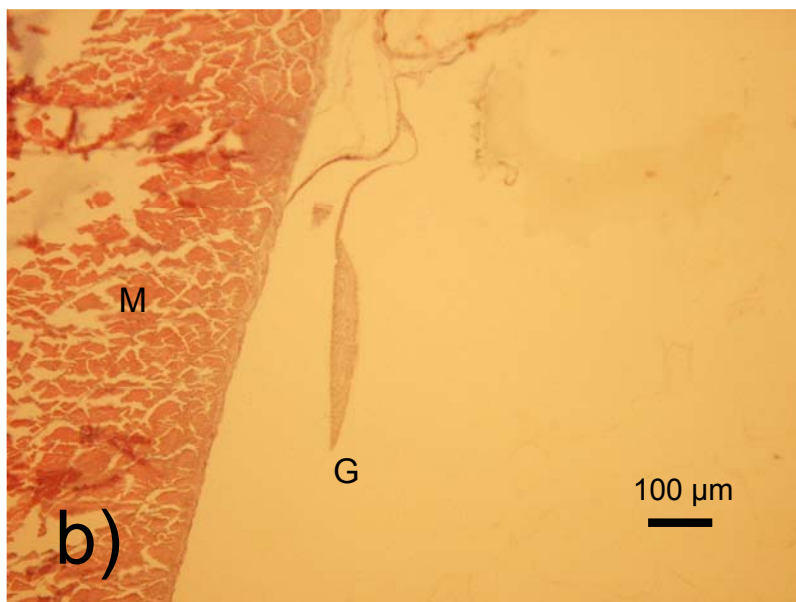
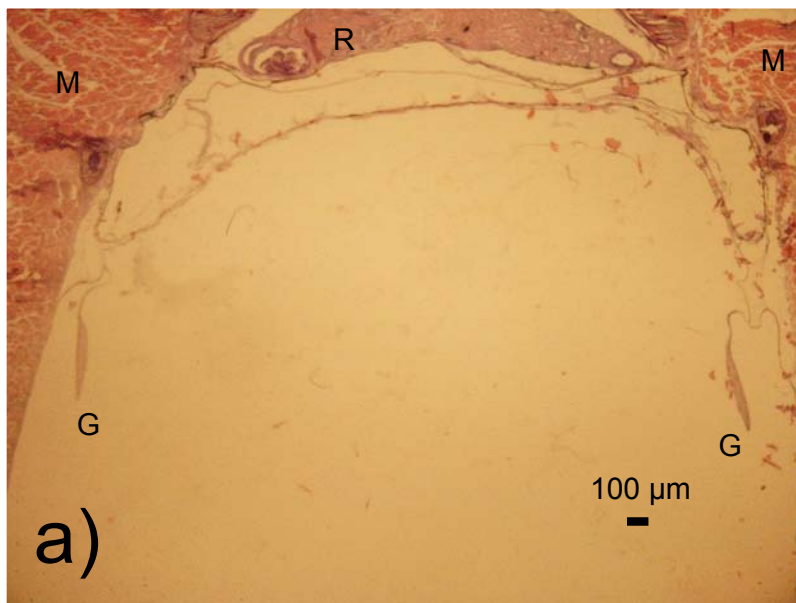
Figura 1 – Peso (g) (A), comprimento total (mm) (B), fator de condição (C) e TCE (%) (média  $\pm$  DP) de juvenis do robalo peva, *Centropomus parallelus* mantidos em (20°, 25° e 30°C) durante o experimento 150 DAE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos em cada tempo.

No final da segunda etapa do experimento, observaram-se indivíduos de (30°C) mais pesados ( $6,87 \pm 2,69$  g), ( $p < 0,05$ ), em relação aos de (25°C) ( $5,38 \pm 2,10$  g) e de (20°C) ( $2,41 \pm 1,00$  g). Quanto ao comprimento, o mesmo resultado não foi observado; apenas os exemplares de (20°C) ( $64,2 \pm 9,3$  mm) continuaram a ser significativamente menor ( $p < 0,05$ ), do que os de (25°C) ( $82,9 \pm 10,6$  mm) e de (30°C) ( $89,1 \pm 11,2$  mm). O valor do fator de condição decresceu para o três tratamentos, principalmente no mês de junho, sendo igual para os três tratamentos (20°C) ( $0,87 \pm 0,06$ ), (25°C) ( $0,87 \pm$

0,05) e (30°C) ( $0,86 \pm 0,06$ ). No caso da TCE%, observou-se também diminuição nos valores, sendo que, no mês de maio, os exemplares de (20°C) mostraram taxas superiores ( $p < 0,05$ ) em relação aos de (25°C) e (30°C); no final do período, não houve diferença significativa entre os três tratamentos (20°C= $2,14 \pm 0,67$ ), (25°C= $1,84 \pm 0,04$ ) e (30°C= $1,83 \pm 0,25$ ) (Figura 1).

Em relação à taxa de sobrevivência, não foram verificadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, tanto na primeira etapa do experimento, (20°C=98%), (25°C=97%) e (30°C=98%), quanto no final (80%), (84%) e (79%) respectivamente.

Análise dos cortes histológicos dos indivíduos sob microscopia óptica indicou que no início do experimento (58 DAE), os mesmos não apresentavam estruturas semelhantes à formação dos primórdios das gônadas. Após 150 DAE, verificou-se que as gônadas encontravam-se localizadas na cavidade peritoneal, abaixo da região do rim e acima do tubo digestivo, fixadas geralmente a um tecido ligado a cavidade (figura 2 a e b). Foi observada a presença de gônias, em organização tecidual, permitindo a classificação em espermatogônias, e formação de alguns conjuntos de espermatogônias na parte mais externa do testículo (figura 2 c). Os animais menores, principalmente no tratamento (20°C), apresentaram geralmente gônadas menores que foram consideradas como indeterminadas devido à dificuldade na identificação de estruturas presentes (figura 2 d).



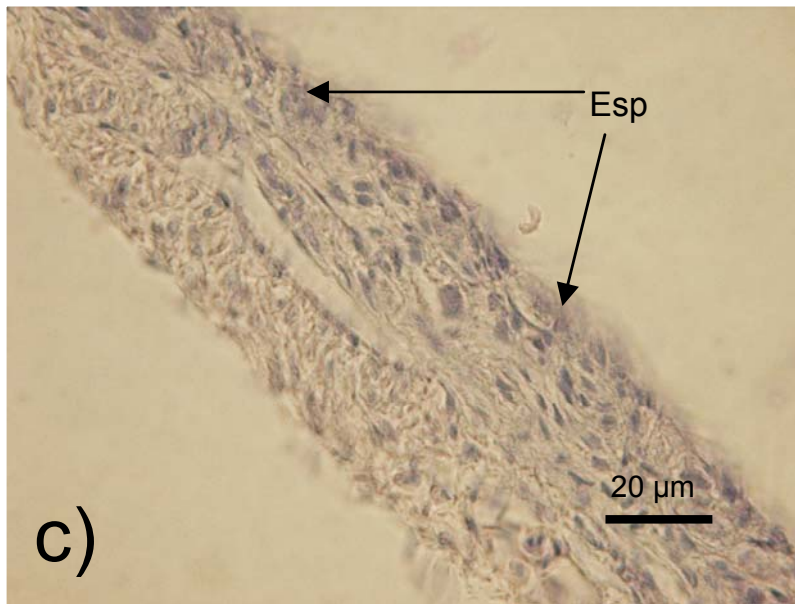


Figura 2 - Cortes histológicos de robalo-peva *C. parallelus* com 150 DAE.

- a) Vista geral da cavidade peritoneal do animal mostrando o par de gônadas (G); o rim (R) e a musculatura lateral (M).
- b) Detalhe da gônada (G); ligada através de filamento à região da musculatura ventral (M).
- c) Detalhe de um testículo com presença de espermatogônias (esp), na região mais periférica.
- d) Detalhe de uma gônada primordial (P G) indeterminada.

Analisando-se a figura 3 observa-se que em todos os tratamentos, a partir das classes de comprimento iguais a 60-69 cm, os

indivíduos, na sua maioria, eram machos. Naqueles do tratamento (20°C), que apresentavam comprimentos menores, as gônadas eram indiferenciadas. O resultado final do exame histológico não permitiu identificar nenhum sinal de mudança na proporção sexual da espécie, em relação ao esperado. A proporção sexual observada é totalmente favorável para obtenção de machos representados pelas barras preenchidas do histograma, nos três tratamentos. Os animais do tratamento (20°C), e alguns animais do (25°C) indicaram um atraso na diferenciação sexual, mostrado nas barras em branco do histograma, que pode estar associado ao menor tamanho encontrado para os animais nestes tratamentos (figura 3).

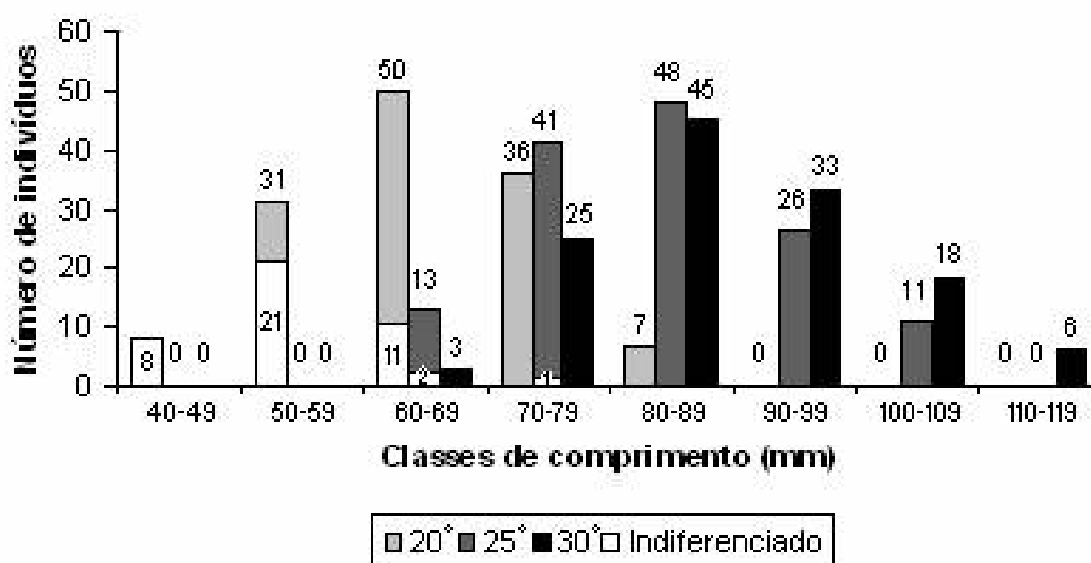


Figura 3 – Número de alevinos de robalo-peva *C. parallelus* com 150 DAE por classe de comprimento e por tratamento. As colunas em branco representam indivíduos indiferenciados e, as demais os machos. Em porcentagem correspondem a T1 (70% machos e 30% indiferenciados), T2 (98% machos e 2% indiferenciados) e T3 (100% machos).

#### 4 – DISCUSSÃO

Os principais objetivos do estudo foram verificar a influência de diferentes temperaturas da água sobre o crescimento e na proporção sexual do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. No sul do Brasil, a temperatura no inverno é muito baixa e pode ser fator limitante na sobrevivência e crescimento de várias espécies de peixe. Em

experimento realizado no Espírito Santo com juvenis do robalo-peva, AOKI *et al.* (2002) verificaram que a tolerância térmica para a espécie encontra-se por volta de 10,6° C. No litoral de Santa Catarina, a temperatura da água atinge valores muito baixos durante todo período inverno e parte da primavera (15 a 20 °C), o que compromete o crescimento da espécie em viveiros estuarinos, e alternativas estão sendo estudadas de maneira a propiciar sistemas de engorda em estufa para estas fases mais críticas do inverno (BARBOSA, 2009). Na larvicultura que ocorre no verão, as temperaturas utilizadas encontram-se ao redor dos 26° C para *C.parallelus* (CERQUEIRA 1995, ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 2002, ALVAREZ-LAJONCHÈRE e TSUZUKI, 2008). Portanto, o presente trabalho foi realizado considerando as variações de temperatura 5° C acima ou abaixo do padrão descrito pelos autores anteriormente citados.

A influência da baixa temperatura foi significativa sobre o crescimento e peso. Na figura 1 é possível observar as diferenças entre os tratamentos e verificar que, no final do experimento (em junho), os animais do (20°C) atingiram peso e comprimento médio próximos aos de (25°C) e (30°C) após um mês de trabalho (abril), indicando defasagem de dois meses no crescimento. OKAMOTO *et al.* (2006) observaram resultados similares para tainha, *Mugil platanus*. Este tipo de diferença ocasionado pela temperatura pode ser variável em função da fase de vida do peixe, como foi observado para o linguado, *Scophthalmus maximus* (IMSLAND *et al.*, 1996, 2001 e 2007, BUREL *et al.*, 1996). O ritmo alimentar lento no primeiro mês de vida, agravado pela baixa temperatura da água de cultivo, interfere significativamente no crescimento dos animais e isto pode representar atraso na obtenção de indivíduos de tamanho comercial. Além disso, LÓPEZ-ALBORS *et al.* (2008) sugerem que variações térmicas durante as fases do desenvolvimento larval e pós-larval podem determinar diferenças significativas na musculatura dos animais quando chegam ao tamanho comercial.

O fator de condição foi o único índice maior para os animais mantidos em 20°C em comparação aos mantidos em 25°C e 30°C, provavelmente ocasionado pela redução maior no ritmo de crescimento (comprimento) proporcionado pela baixa temperatura. Os valores de fator de condição obtidos no presente trabalho são bastante similares aos verificados para a mesma espécie por ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.* (2002). No final do experimento, houve diminuição dos valores para todos os tratamentos. Isto pode ser observado também em relação a TCE% que, foi maior ( $p < 0,05$ ) em abril para o tratamento (30°C). O



que explica esta mudança é a troca do alimento, sendo nítida a influência da mudança de uma ração com 57% de proteína, desenvolvida para peixes marinhos em relação à outra ração com 40% de proteína, utilizada para peixes carnívoros em geral. Resultados semelhantes foram encontrados por GARCIA (2001) e SOUZA (2009), que estudaram composição adequada de proteínas para alimentação de alevinos de robalo-peva.

No final do experimento, os valores de peso dos animais do tratamento (30°C) foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ), quando comparados aos de (20°C) e (25°C). Este resultado mostra a importância da temperatura da água para animais nesta fase de crescimento e, também, está em acordo com OKAMOTO *et al.* (2006) que verificaram a temperatura de 30°C ser melhor para desenvolvimento da tainha, *Mugil platanus*. Desta forma, pode-se dizer que 30° C seria temperatura mais adequada para o crescimento do robalo-peva.

Quanto à importância da temperatura na diferenciação sexual do robalo *C. parallelus* é uma questão discutível. Segundo DEVLIN e NAGAHAMA (2002), a determinação do sexo em peixes é um processo flexível, e deste modo, o destino das células somáticas e germinativas no primórdio da gônada pode ser afetado através de ações genéticas, ambientais, comportamentais e através de fatores fisiológicos. STRÜSSMANN e NAKAMURA (2002) comentam que a temperatura afeta o começo da esteroidogênese, nas gônadas, através da modulação da expressão do gene aromatase. Eles consideram ainda que, além da aromatase, outros genes, enzimas e hormônios não esteróides das gônadas, como também os produzidos no cérebro e hipófise, possam ser afetados pela temperatura, mas que para muitas espécies a ação gênica é mais forte para a determinação sexual.

A fase na qual o animal ainda não passou por um processo de diferenciação sexual é conhecida como período lábil, pois o indivíduo encontra-se susceptível à definição de sexo (PIFERRER, 2001; BLÁSQUEZ *et al.*, 2001). Sua determinação é de grande importância para a definição de tratamentos baseados na temperatura, visto que ela pode ocorrer no início da embriogênese ou em diferentes fases de desenvolvimento do animal. Com isso a utilização de tratamentos baseados na temperatura pode ter maior efetividade em indivíduos no período lábil (BLÁSQUES *et al.*, 1998). Os cortes histológicos não indicaram nenhum sinal dos primórdios da gônada, o que foi considerado positivo, por indicar um possível período lábil.

Em relação ao presente experimento, podemos dizer que a idade dos animais no início da exposição a temperatura são similares a

algumas verificadas na literatura, porém o tempo de exposição foi menor, em outros casos verificou-se que a melhor idade para início dos tratamentos pode ocorrer nos primeiros estágios de divisão na formação do embrião. Desta maneira, verifica-se para o robalo europeu, *Dicentrarchus labrax* os seguintes experimentos: BLÁZQUES *et al.* (1998) utilizaram exemplares de 57 a 137 DAE, expostos em temperaturas de 25° C e 15° C por período de 80 dias, não verificaram mais que 27% de fêmeas. Por outro lado, PAVLIDIS *et al.* (2000) trabalhando com larvas da mesma espécie de peixe com 30 DAE sob temperaturas de 13, 15 e 20° C obtiveram respectivamente, 72-74%, 67-73% e 24-28% de fêmeas. KOUMOUNDOUROS *et al.* (2002) testaram temperaturas de 15 e 20° C em larvas da mesma espécie em diferentes estágios de desenvolvimento, e observaram maior frequência de fêmeas nos grupos expostos a temperatura de 15° C. Já SAILLANT *et al.* (2002) verificaram que larvas de diferentes famílias do robalo europeu, expostas a temperaturas de 13 e 20° C não foram sensíveis ao tratamento, sugerindo influência genética na determinação do sexo. MYLONAS *et al.* (2005) trabalhando com larvas do robalo europeu, com 11-51 DAE e 55-95 DAE nas temperaturas de 13, 17 e 21° C verificaram maior porcentagem de fêmeas nos tratamentos com menores temperaturas, para indivíduos com 55-95 DAE.

No presente trabalho, no final do experimento, os animais com 150 DAE, classes de tamanho variando de (20° C) ( $64,2 \pm 9,3$  mm), (25° C) ( $82,9 \pm 10,6$  mm) e (30° C) ( $89,1 \pm 11,2$  mm) foram identificados como machos, e avaliados em acordo as informações verificadas nos trabalhos de HIBIYA (1982), FUJIOKA (2001), DEVLIN e NAGAHAMA, (2002), STRÜSSMANN e NAKAMURA (2002).

No trabalho de HENDRY *et al.* (2002) verificou-se que em Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, a gônada feminina apresentando cavidade ovariana pode ser identificada em animais com 38 mm de comprimento e testículos presumíveis em animais com 43,5 mm. Desta maneira, imaginou-se que os animais no momento do encerramento do experimento poderiam ser identificados em sua totalidade, visto que as classes de comprimento eram bastante semelhantes, as do trabalho mencionado. No entanto, nem todos os animais da menor temperatura com comprimento médio  $64,2 \pm 9,3$  mm puderam ser identificados.

Verificou-se para o tipo de corte realizado que as gônadas ficavam na cavidade peritoneal, abaixo da região do rim e acima da região do intestino. As estruturas identificadas como espermatogônias foram localizadas, mais próximas à periferia do testículo (figura 2c) e

foram usadas como critério na identificação dos animais. A influência da temperatura sobre o crescimento dos animais foi nítida e também, por consequência, na diferenciação sexual e no tamanho da gônada. Exemplo disto pode ser observado na figura 2 (d) com a formação de uma gônada primordial que não permitiu sua identificação na temperatura 20°C.

Após o exame de todos os cortes histológicos, os animais foram separados por classes de tamanho e tratamentos, conforme apresentado no histograma da figura 3 (150 DAE ou 5 meses de idade). Em termos de percentuais podemos dizer que o tratamento (20°C) apresentou 70% de machos identificados e 30% de peixes indefinidos; no tratamento (25°C) observou-se 98% de machos identificados e 2% indefinidos e o tratamento (30°C) teve 100% de machos identificados. BLÁSQUEZ *et al.* (1998) verificaram para o robalo europeu, *D. labrax* que aos 9 meses de idade apareceram primeiro fêmeas com classes de tamanho de 11,5 – 13,5 mm, e os machos, apareceram somente com quase 11,6 meses de idade com classe de tamanho de 12,8 – 14,2 mm.

Os dados verificados no trabalho sugerem que no caso do robalo-peva, pode estar ocorrendo um forte efeito gênico na definição do sexo. Isto pode ser explicado por se tratar de uma espécie protândrica, com definição da maioria dos indivíduos inicialmente como machos, como verificado no presente trabalho. A presença indivíduos indiferenciados nos animais do tratamento (20°C), não permite afirmar que todos os animais seriam identificados como machos. Desta maneira, não foi possível verificar o efeito das temperaturas na mudança da proporção sexual para o robalo-peva, esperado na obtenção de números expressivos de fêmeas. Recentemente, VIDAL-LÓPEZ *et al.* (2009) relatam sucesso para a reversão e obtenção de mais de 90% de fêmeas do robalo-flecha, *C. undecimalis* após alimentação de juvenis com ração com 17β estradiol. Esta informação nos faz imaginar que outros ensaios são necessários para confirmar se os robalos podem ter seu sexo revertido também por tratamentos com temperatura.

De acordo com as condições testadas neste trabalho, fica claro que o experimento indica que a temperatura de 30°C deve ser examinada para diferentes fases do cultivo, podendo acelerar o período de alevinagem adotado hoje em Santa Catarina. Os resultados, em relação à mudança das proporções sexuais, obtidos por este trabalho indicam que novos experimentos devem ser conduzidos de maneira a determinar o melhor momento para aplicação de tratamentos com alterações de temperaturas, bem como o tempo para retorno à temperatura de cultivo. Novos ensaios por período mais longo podem

facilitar a identificação dos animais e produzir resultados melhores e comprovados através da utilização das técnicas de histológicas.

**AGRADECIMENTOS:**

Aos Técnicos e colegas de trabalho do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR)

## 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. e TSUZUKI, M.Y. 2008 A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research*. v.39, p.684-700.
- AOKI, P. C. M. ; HELMER, J. L. ; KILL, J. L. ; BARROSO, M. V. ; VIDAL JUNIOR, M. Tolerância térmica de alevinos de robalo-peba *Centropomus parallelus* (Poey 1860) em água doce e salgada. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 12, 2002, Goiânia. Anais..., p. 289, 2002.
- BALDISSEROTO, B. 2002 Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1 ed. Santa Maria: editora UFSM, 212 p.
- BARBOSA, M. C. 2009 *Efeito da taxa de alimentação e da adição de probiótico na dieta sobre o desempenho zootécnico de juvenis de robalo-peva **Centropomus parallelus***, 52 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- BLÁZQUEZ, M.; ZANUY, S.; CARILLO, M.; PIFERRER, F. 1998 Effects of rearing temperature on sex differentiation in the european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Experimental Zoology*. v. 281, p. 207–216.
- BLÁZQUEZ, M.; FELIP, A; ZANUY, S.; CARILLO, M.; PIFERRER, F. 2001 Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass. *Journal of Fish Biology*, v. 58, p. 342–358.
- BLÁZQUEZ, M.; NAVARRO-MARTÍN, L.; PIFERRER, F. 2009 Expression profiles of sex differentiation-related genes during ontogenesis in the european sea bass acclimated to two different temperatures. *Journal of Experimental Zoology*. v. 312B (mol dev evol).
- BUREL, C.; PERSON-LE RUYET, J.; GAUMET, F.; LE ROUX, A.; SÉVÈRE, A.; BOEUF, G. 1996 Effects of temperature on growth

and metabolism in juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*. v. 49, p. 678–692.

CARRILLO, M.; ZANUY, S.; PRAT, F.; CERDÁ, J.L.; RAMOS, J.; MAÑANÓS, E.; BROMAGE, N. 1995 Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: Bromage, N.R.; Roberts, R.J., editors. Broodstock management and egg and larval quality. Oxford: Blackwell Science, p. 138–168.

CERQUEIRA, V. R. 2002 Cultivo do Robalo: Aspectos da Reprodução, Larvicultura e Engorda. Florianópolis: UFSC - Ed. do Autor, v. 1. 94 p.

CERQUEIRA, V.R. 2009 Spawning and larviculture of the fat snook (*Centropomus parallelus*) and the common snook (*Centropomus undecimalis*) in Brazil. In: International Symposium on the Biology and Culture of Snooks, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.

CERQUEIRA, V. R. e TSUZUKI, M. Y. 2009 A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 17–28.

DEVLIN, R. H. e NAGAHAMA, Y. 2002 Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, v. 208, p.191–364.

FRASER, T.H. CENTROPOMIDAE. IN: FISHER, W (Ed.). 1978 FAO species identification sheets fishery purposes. v. 5. Western Central Atlantic (Fishing Area 31). Roma: FAO.

FUJIOKA, Y. 2001 Thermolabile sex determination in honmoroko. *Journal of Fish Biology*. v. 59, p. 851-861.

GARCIA, A.S 2001. *Influência do nível de proteína da dieta no crescimento e composição corporal de juvenis do robalo peva Centropomus parallelus Poey, 1860*. 44 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

- HENDRY, C.I.; MARTIN-ROBICHAUD, D.J.; BENFEY, T.J. 2002 Gonadal sex differentiation in Atlantic Halibut. *Journal of Fish Biology*, v. 60, p. 926-940.
- IMSLAND, A.K.; SUNDE, L.M.; FOLKVORD, A.; STEFANSSON, S.O. 1996 The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*, v.49, p. 926-940.
- IMSLAND, A. K.; FOSS, A.; GUNNARSSON, S.; BERNTSSEN, M. H.G.; FITZGERALD, R.; BONGA, S. W. V.; HAM, E.; NÆVDAL, G.; STEFANSSON, S. O. 2001 The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. v.198, p. 353–367.
- IMSLAND, A. K.; BJÖRNSSON, B. T.; GUNNARSSON, S.; FOSS, A.; STEFANSSON, S. O. 2007 Temperature and salinity effects on plasma insulin-like growth factor-I concentrations and growth in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. v.271, p. 546–552.
- JIAN, C.Y., CHENG, S.Y.; CHEN, J.C. 2003. Temperature and salinity tolerances of yellowfin sea bream, *Acanthopagrus lotus*, at different salinity and temperature levels. *Aquaculture Research*, 34:175-185.
- KOUMOUNDOUROS, G.; PAVLIDIS, M.; ANEZAKI, L.; KOKKARI, C.; STERIOTI, A.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. 2002 Temperature sex determination in the european sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): critical sensitive ontogenetic phase. *Journal of Experimental Zoology*. v. 292, p. 573–579.
- LÓPEZ-ALBORS, O.; ABDEL, I.; PERIAGO, M. J.; AYALA, M. D.; ALCÁZAR, A. G.; GRACIÁ, C. M.; NATHANAILIDES, C.; VÁZQUEZ, J. M. 2008 Temperature influence on the white muscle growth dynamics of the sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. Flesh quality implications at commercial size. *Aquaculture*. v. 277, p. 39–51.
- MYLONAS, C. C.; ANEZAKI, L.; DIVANACH, P.; ZANUY, S.; PIFERRER, F.; RON, B.; PEDUEL, A.; BEN ATIA, I.; GORSHKOV, S.; TANDLER, A. 2005 Influence of rearing

temperature during the larval and nursery periods on growth and sex differentiation in two Mediterranean strains of *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Fish Biology*. v. 67, p. 652-668.

OKAMOTO, M.; SAMPAIO, L. A.; MAÇADA, A.P. 2006 Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis da tainha *Mugil platanus* GÜNTHER, 1880. *Atlântica*, FURG, Rio Grande, 28(66 1): 61-66.

PAVLIDIS, M.; KOUMOUNDOUROS, G.; STERIOTI, A.; SOMARAKIS, S.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. 2000 Evidence of temperature-dependent sex determination in the european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) *Journal of Experimental Zoology*. v. 287, p. 225–232.

PIFERRER, F. 2001 Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, v. 197, p. 229–281.

RIVAS, L.R. 1986 Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia*, Lawrence, v. 3, p. 579-611.

SAILLANT, E.; FOSTIER, A.; HAFFRAY, P.; MENU, B.; THIMONIER, J.; CHATAIN, BÉATRICE. 2002 Temperature Effects and Genotype-Temperature Interactions on Sex Determination in the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Experimental Zoology*. v.292, p. 494–505.

SOUZA, J.H. 2009 *Avaliação do desempenho de juvenis robalo-peva *Centropomus parallelus*, alimentados com dietas práticas com diferentes concentrações protéicas*. 35 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

STRÜSSMANN, C. A. e NAKAMURA, M. 2002 Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 26, p.13-29.

HIBIYA, T. 1982 Gonads. In: Hibiya, T. editor. *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. Tokyo: Kodansha Ltd., p.127-129.



- TAYLOR, R.G.; GRIER, H.J.; WHITTINGTON, J.A. 1998 Spawning rhythms of common snook in Florida. *Journal of Fish Biology*. v. 53, p. 502-520.
- TAYLOR, G.T.; WHITTINGTON, J.A.; GRIER, H.J.; CRABTREE, R.E. 2000 Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coast of South Florida. *Fishery Bulletin*, v.98, p. 612-624.
- VIDAL-LÓPEZ, J. M.; CONTRERAS-SÁNCHEZ, W.M.; ÁLVAREZ-GONZALES, C.A., HERNANDO-FRANYUTTI, A.; HERNÁNDEZ-VIDAL, U. Feminización de juveniles de robalo blanco (*Centropomus undecimalis*) empleando 17-β estradiol en la dieta. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.

## CAPÍTULO V – Conclusões

### 5.1. Conclusões Gerais

#### Capítulo II

- Verificou-se que a maturação em cativeiro do robalo-flecha é bastante difícil, e poderia exigir um controle ambiental distinto do que foi utilizado no presente trabalho, sobretudo com respeito à temperatura. Apesar disso, o aumento na maturação sexual dos reprodutores em comparação ao ano anterior, bem como a maior produção espermática no mês de março, são informações importantes para que se possa ter um maior controle do ciclo reprodutivo desta espécie.

#### Capítulo III

- No primeiro experimento, a combinação do sistema de liberação prolongada e dos hormônios incrementou a produção de sêmen, mas não pode ser considerada a solução definitiva para a maturação de machos do robalo-flecha.
- No segundo experimento, o tratamento crônico com HCG resultou na presença de ovócitos na fase inicial de vitelogênese em uma das fêmeas, mas não foi suficiente para alcançar os estágios finais de vitelogênese, maturação final e desova. Os tratamentos crônicos com HCG tiveram pouco efeito nos machos examinados.
- Os resultados do presente trabalho representam um significativo avanço na obtenção de machos maduros. Entretanto, também indicam que novos protocolos para estimular a maturação, sobretudo de fêmeas, deverão ainda ser desenvolvidos utilizando tanto fatores ambientais, quanto hormonais.

#### Capítulo IV

- De acordo com as condições testadas neste trabalho, fica claro que o experimento indica que a temperatura de 30°C deve ser examinada para diferentes fases do cultivo, podendo acelerar o período de alevinagem adotado hoje em Santa Catarina. Os resultados, em relação à mudança das proporções sexuais, obtidos por este trabalho indicam que novos experimentos devem ser conduzidos de maneira a determinar o melhor momento para aplicação de tratamentos com alterações de temperaturas, bem como o tempo para retorno à temperatura de

cultivo. Novos ensaios por período mais longo podem facilitar a identificação dos animais e produzir resultados melhores e comprovados através da utilização das técnicas de histológicas.

## 5.2. Considerações finais

No ano de 2005, ingressei no programa de doutorado da Universidade Federal de Santa Catarina na área de Aquicultura. A proposta acordada junto ao meu orientador constituiu a procura de uma solução para a reprodução do robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, em confinamento. Salientamos que durante o meu mestrado foram desenvolvidos trabalhos para aprimorar a maturação e desova em cativeiro, para o robalo peva, *Centropomus parallelus*, quando obtivemos resultados bastante satisfatórios. Assim sendo, o desafio estava lançado, procurando-se a solução do problema da maturação e desova do robalo-flecha em cativeiro.

Ao chegar a Santa Catarina uma das primeiras etapas consistiu na captura de matrizes de *C. undecimalis* realizada em uma fazenda de criação de camarão marinho em vazio sanitário em consequência da mancha branca. A captura de animais tinha como objetivo incorporar novas matrizes ao plantel existente no momento no LAPMAR. Esta virose obrigou muitos criadores a procurar novas alternativas em substituição à produção de camarão marinho. Participei na ocasião de reuniões na EPAGRI em Florianópolis visando possíveis alternativas a criação do camarão. Neste momento, a produção de robalo em cativeiro foi vista como uma possível solução, e a oportunidade mostrou ser bastante interessante para o desenvolvimento do meu projeto de doutorado.

No início de 2006, baseado em capturas de animais selvagens foram obtidos os primeiros resultados de desova para o robalo-flecha no litoral de Santa Catarina. Estes primeiros resultados foram conseguidos a partir da utilização de fêmeas selvagens maduras e de reprodutores masculinos mantidos no plantel do laboratório. O problema constatado neste momento foi a limitada produção de sêmen verificada para os animais do plantel, levando a baixos resultados para fertilização. Verificamos naquele momento que seria necessárias grandes mudanças na estrutura de manutenção do plantel de reprodutores, visando dessa maneira melhorar resultados com os exemplares mantidos no LAPMAR e também pela dificuldade na obtenção de novos reprodutores capturados do ambiente. Desta forma, as duas salas de maturação de reprodutores do laboratório de piscicultura marinha foram adaptadas para trabalhar com controle do fotoperíodo e temperatura, bem como

pela redução do estresse ocasionado por movimentação de pessoas nas salas de maturação.

Resultados obtidos nas salas após as adaptações mostraram-se bastante satisfatórios para maturação da outra espécie de robalo (*C. parallelus*) mantidos no LAPMAR, sugerindo que o controle adequado podem permitir a obtenção de gametas possivelmente em qualquer época do ano para o robalo-peva e que também deveriam ser apropriados para o robalo-flecha.

Observações preliminares no período reprodutivo 2006/2007, relacionadas aos diferentes regimes térmicos e simulação do fotoperíodo natural, indicaram que o volume de sêmen foi melhor em relação aos ensaios de desova do começo de 2006, sendo verificado que o período com maior coleta de sêmen foi março. Outro dado interessante foi a constatação que do plantel de 54 reprodutores avaliados no estudo neste momento era composto de 80% de machos, sendo que do restante, apenas um indivíduo foi identificado como fêmea e o restante de animais, indeterminados. Os robalos são animais protândricos, desta forma desde sua primeira maturação a maioria dos animais se desenvolve como machos.

No período reprodutivo 2007/2008 foi feito uso de tecnologia de indução baseada em elastômero para liberação gradual MDX4-4210, no qual foi imerso o hormônio liberador da gonadotrofina (LHRHa) e também o esteróide sexual  $17\alpha$  metiltestosterona, visando aumentar a produção espermática pela combinação destes indutores. Os resultados indicaram um resultado positivo em relação da combinação dos dois hormônios em relação ao volume sêmen em relação apenas do esteroide  $17\alpha$  metiltestosterona. Também foi observado a evolução em relação a identificação do plantel de reprodutores com 96% correspondendo a machos, duas fêmeas identificadas e o restante indeterminado. Na prática, apesar dos resultados de identificação dos reprodutores ser realizado a partir da produção espermática e da presença de ovócitos, estava claro pelos limitados volumes de sêmen obtidos, e dos estágios ovocitários encontrados, que a maturação da espécie estava bastante complicada. No período seguinte (2008/2009), nova tentativa foi realizada através do emprego de hormônio gonadotrófico coriônico humano (HCG) em doses múltiplas, associado ao uso do hormônio folículo estimulante (FSH), sendo provavelmente uma das primeiras tentativas em se aplicar este hormônio para peixes, no Brasil. Apesar dos esforços, os resultados não foram satisfatórios com melhora significativa para o avanço da maturação, mas pela primeira vez foi

possível a observação de ovócitos pré-vitelegênicos, para uma das duas fêmeas observadas no plantel. Em relação aos machos não foi satisfatório o resultado observado nesta nova tentativa.

Ao final dos trabalhos experimentais com o robalo flecha, *C. undecimalis*, ficou claro que os estudos sobre a maturação da espécie em cativeiro precisam ter continuidade e as informações obtidas com este trabalho serão de grande auxílio. Gostaria de ressaltar ainda, o empenho na manutenção deste plantel durante todo o período, baseado em cuidados relacionados à manutenção de qualidade da água para os tanques de cultivo, no preparo de rações e na alimentação destes animais ao longo de toda esta jornada. Destaco também, a impressionante resistência destes animais ao manejo, mostrando qualidades indiscutíveis em relação à manutenção em condições de cativeiro.

Decisões importantes precisam ser tomadas em relação à manutenção dos animais. A eliminação de uma parte das matrizes e substituição por novos animais, de preferência da captura de fêmeas selvagens e que possam ser incorporadas no plantel. Forte regime de temperatura deve ser adotado baseado em trabalhos recentes nos Estados Unidos, associados a uma alimentação com o composto fish Breed M (INVE), lula, peixe e camarão. O sistema de filtragem nos tanques deve ser modificado de maneira que a filtragem biológica seja externa e adaptação de um sistema de filtragem de retirada de proteína. O menor manejo possível deve ser realizado para os animais, sendo o ideal um plantel utilizado para pesquisas e um outro para a maturação e desova.

Em relação ao trabalho realizado com os alevinos do robalo-peva, *C. parallelus*, destaco a importância da manutenção do plantel de reprodutores do laboratório, sobre minha responsabilidade durante minha estada em Florianópolis. As larvas foram produzidas a partir dos trabalhos de desova em laboratório destes animais e agradeço a toda equipe do LAPAMAR, para obtenção de alevinos para realização do experimento. Este trabalho teve colaboração direta de alunos que estiveram no laboratório em estágios supervisionados e foram bastante importantes para sua execução.

A idéia foi verificar de que maneira as mudanças na temperatura da água poderiam interferir no crescimento e na mudança da proporção sexual para a espécie conhecidamente protândrica. Trabalhos para animais, no ambiente e também em cativeiro, indicam que as fêmeas são reconhecidamente maiores que os machos. Outra importância seria a adaptação de possíveis resultados para o robalo-flecha. Assim como verificado no trabalho de maturação do robalo-flecha no trabalho da presente tese, no qual praticamente todo o lote foi

composto por machos, imagina-se a possibilidade de acrescentar fêmeas menores como futuros reprodutores. Enfim, os resultados preliminares não permitiram uma mudança favorável para fêmeas, ao contrário verificou-se uma grande quantidade de machos. A literatura sobre o assunto sugere que novos ensaios devem ser realizados, seja pela temperatura, ou até pela utilização de hormônios feminilizantes, a fim de se obter uma maior proporção de fêmeas. Desta forma, podemos melhorar tanto a produção do robalo-peva, indicada por maior crescimento das fêmeas, e também do robalo-flecha. No caso do flecha ainda com a vantagem em se obter fêmeas de primeira maturação, menores em tamanho e conseqüentemente mais interessantes para a maturação em cativeiro.

## 6. Referências bibliográficas da introdução geral

AGER, L.A.; HAMMOND, D.E.; WARE, F.J. Artificial spawning of snook *Centropomus undecimalis*. In: ANNUAL CONFERENCE SE GAME AND FISH COMMISSION, 1976, Hamburg, Estados Unidos. Proceedings... p. 158-166, 1976.

ALMANSA, E. et al. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. **Aquaculture**, v. 170, p. 323-336, 1999.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.S. et al. Mass production of juveniles of the snook *Centropomus parallelus* in Brazil. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.33, n. 4, p. 506-516, 2002.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. Cultivo de robalos: Potencialidades e resultados. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 85, p. 15-21, set./out. 2004.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. and TSUZUKI, M.Y. A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research*, v. 39, p. 684-700, 2008.

ASTURIANO, J.F. et al. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. **Aquaculture**, v. 194, p. 173-190, 2001.

BALDISSEROTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 1 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 212 p.

BARBUIO, M.A.T. **Efeitos da utilização de uma dieta comercial e dietas experimentais, nas formas seca e semi-úmida, no crescimento e composição corporal do robalo (*Centropomus parallelus* Poey, 1860).** 57 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, 1999.

BAYARRI, M.J. et al. Effect of photoperiod manipulation on the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **General Comp. Endoc.**, v. 136, p. 72–81, 2004.

BELL, J. G. et al. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 149, p. 107-119, 1997.

BLÁZQUEZ, M. et al. Effects of rearing temperature on sex differentiation in the european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) **The Journal of Experimental Zoology**, v. 281, p. 207–216, 1998.

BLÁZQUEZ, M. et al. Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass. **Journal of Fish Biology**, v. 58, p. 342–358, 2001.

BLÁZQUEZ, M.; NAVARRO-MARTÍN, L.; PIFERRER, F. Expression profiles of sex differentiation-related genes during ontogenesis in the european sea bass acclimated to two different temperatures. **Journal of Experimental Zoology**, v. 312B (mol dev evol), 2009.

BOEUF, G. and LE BAIL P.Y. Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, v. 177, p. 129–152, 1999.

BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, v. 197, p. 63-98, 2001.

BRUCE, M. et al. Development of broodstock diets for the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. **Aquaculture**, v. 177, p. 85-97, 1999.

BUREL, C. et al. Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. **Journal of Fish Biology**, v. 49, p. 678–692, 1996.

CARRILLO, M. et al. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: Bromage N.R, Roberts R.J, editors. Broodstock management and egg and larval quality. Oxford: Blackwell Science. p. 138–168, 1995.



CERQUEIRA, V.R. Teste de indução à desova do robalo *Centropomus parallelus*, do litoral da Ilha de Santa Catarina com Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 7.,1995, Recife. Anais... Recife: Associação dos Engenheiros de Pesca - PE, p. 95-101, 1995.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo do Robalo: Aspectos da Reprodução, Larvicultura e Engorda. Florianópolis: UFSC - Ed. do Autor, 2002. v. 1. 94 p.

CERQUEIRA, V.R. 2009 Spawning and larviculture of the fat snook (*Centropomus parallelus*) and the common snook (*Centropomus undecimalis*) in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY AND CULTURE OF SNOOKS, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.

CERQUEIRA, V.R. and TSUZUKI, M.Y. 2009 A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, 35: 17–28.

CERQUEIRA, V.R.; MIOSO, R.; CANARIN, M. Indução de desova com fertilização natural e artificial e incubação de ovos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*). **Atlântica**, Rio Grande, 27 38 (1): 31-38, 2005.

COSTA, H.R. Experimento de indução em *Centropomus undecimalis*. I estudo do ciclo de atividade sexual e experimentos de indução. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 8, 1981, Brasília, DF, Resumos..., p. 104-105, 1981.

DAVIE, A. et al. Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods **Aquaculture**, v. 270, p. 379–389, 2007.

DEVLIN, R.H. and NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, v. 208, p.191–364, 2002.

DUFOUR, S.; LE BELLE, N.; FONTAINE, Y.A. Development of a heterologous radioimmunoassay for eel (*Anguilla anguilla*) gonadotropin. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 49, p. 404–413, 1983.

DUFOUR, S. et al. Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development, by administration of a gonadoliberin agonist and of dopamine antagonists, in female silver eel pretreated with estradiol. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 70, p.20–30, 1988.

DUMAS, S. et al. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. **Aquaculture**. v. 234, p. 615–623, 2004.

EDWARDS, R.E. and HENDERSON, B.D. An experimental hatchery project: Studies of propagation, culture and biology of snook (*Centropomus undecimalis*). In: ANNUAL GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE, 38., 1985, Trois-Islets, Martinique. Proceedings... p. 211-221, 1985.

FELIP, A. et al. Reduction of sexual maturation in male *Dicentrarchus labrax* by continuous light both before and during gametogenesis. **Aquaculture**, v. 275, p. 379–389, 2008.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. et al. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v. 132, p. 325-327, 1995.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. et al. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 148, p. 233-246, 1997.

FERRAZ, E.M. et al. Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 28, p. 125-133, 2002.

FRAGA, I. et al. 2006. Desarrollo de un banco de reproductores de Róbalo (*Centropomus undecimalis*, Bloch 1792): I. Manejo del alimento. CIVA, p. 1-9, 2006. Disponível em: <<http://www.civa2006.org>>. Acesso 20 setembro 2007.

FRANTZEN, M. et al. Effects of photoperiod on sex steroids and gonad maturation in Arctic charr. **Aquaculture**, v. 240, p. 561–574, 2004.

FRASER, T.H. Centropomidae. IN: FISHER, W (Ed.) FAO species identification sheets Jôr fishery purposes. v. 5. Western Central Atlantic (Fishing Area 31). Roma: FAO, 1978.

GABILLARD, J.-C. et al. Effect of temperature on gene expression of the Gh/Igf system during embryonic development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Zoology**. v. 298A, p. 134–142, 2003.

GARCIA, A.S. **Influência do nível de proteína da dieta no crescimento e composição corporal de juvenis do robalo peva *Centropomus parallelus* Poey, 1860**. 2001, 44 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

GODINHO, H.M. et al. 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: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE ACUICULTURA, 9, Coquimbo, Chile, 1996. Comunicaciones Cortas...Coquimbo,Universidad Católica del Norte, p. 280-283, 1996

GODINHO, H.M. et al. Reprodução induzida do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 37, p. 37-42, 2000.

GREENWOOD, P.H. A review of the family Centropomidae (Pisces: Perciformes). Bull. Brit. Mus. Nat. Hist., London, v.29, n.1,p.1-81, 1976.

GRIER, H. J. and TAYLOR, R. G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, v. 53, p. 521–542, 1998.

GUANG-LI, L.; XIAO-CHUN, L.; HAO-RAN, L. Effects of aromatizable and nonaromatizable androgens on the sex inversion of red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 32, p. 25–33, 2006.

HANSEN, T. et al. Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. **Aquaculture**, v. 203, p. 51–67, 2001.

HAZEL, J.R. Thermal Biology. In: Evans D.H., editor. The physiology of fishes. Florida: CRC series in marine science. p. 427–467, 1993.

HERNANDEZ-RAUDA, R.; ALDEGUNDE, M. Effects of acute  $17\alpha$ -methyltestosterone, acute  $17\beta$ -estradiol, and chronic  $17\alpha$ -methyltestosterone on dopamine, norepinephrine and serotonin levels in the pituitary, hypothalamus and telencephalon of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J Comp Physiol B.**, v. 172, p. 659–667, 2002.

HOLLAND, M. C. H.; HASSIN, S.; ZOHAR, Y. The effects of long-term testosterone, gonadotropin-releasing hormone agonist and pimozide treatments on testicular development and luteinizing hormone levels in juvenile and early maturing striped bass, *Morone saxatilis*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 129, p. 178–187, 2002.

HOWELL, R.A.; BERLINSKY, D.L.; BRADLEY, T.M. The effects of photoperiod manipulation on the reproduction of black sea bass, *Centropristis striata*. **Aquaculture**, v. 218, p. 651–669, 2003.

HUBER, M. and BENGTON, D. A. Effects of photoperiod and temperature on the regulation of the onset of maturation in the estuarine fish *Menidia beryllina* (Cope) (Atherinidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 240, p. 285–302, 1999.

IMSLAND, A.K., et al. The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile turbot. **Journal of Fish Biology**, v. 49, p. 926–940, 1996.

IMSLAND, A.K. et al. The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v.198, p. 353–367, 2001.

IMSLAND, A.K. et al. Temperature and salinity effects on plasma insulin-like growth factor-I concentrations and growth in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 271, p. 546–552, 2007.

IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, p. 25–42, 2001.

KOUMOUNDOUROS, G. et al. Temperature sex determination in the european sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): critical sensitive ontogenetic phase. **Journal of Experimental Zoology**. v. 292, p. 573–579, 2002.

LEE, C.S. et al. Induced maturation and spawning of milkfish, *Chanos chanos* Forsskal, by hormone implantation. **Aquaculture**, v. 52, p. 199-205, 1986a.

LEE, C.S. et al. Influence of chronic administration of LHRH- analogue and / or 17  $\alpha$ - methyltestosterone on maturation in milkfish, *Chanos chanos*. **Aquaculture**, v. 59, p. 147-159, 1986b.

LÓPEZ-ALBORS, O. et al. Early temperature effects on muscle growth dynamics and histochemical profile of muscle fibres of sea bass *Dicentrarchus labrax* L., during larval and juvenile stages. **Aquaculture**, v. 220, p. 385–406, 2003.

LÓPEZ-ALBORS, O. et al. Temperature influence on the white muscle growth dynamics of the sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. Flesh quality implications at commercial size. **Aquaculture**, v. 277, p. 39–51, 2008.

MAR, H. et al. Sexually mature European eels (*Anguilla anguilla* L.) stimulate gonadal development of neighbouring males: Possible involvement of chemical communication. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v.147, p. 304–313, 2006.

MARTIN-ROBICHAUD; D.J. and BERLINSKY, D.L. The effects of photothermal manipulation on reproductive development in female haddock *Melanogrammus aeglefinus* L. **Aquaculture Research**, v. 35, p. 465-472, 2004.

MAZORRA, C. et al. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v. 227, p. 21-33, 2003.

MCGUREN, J.; GARRETT, R.; ELIZUR, A. Hormone implants accelerate maturation in barramundi. The State of Queensland (Department of Primary Industries and Fisheries) 2005. Disponível em: <[www.dpi.qld.gov.au/aquaculturenews/#nav1](http://www.dpi.qld.gov.au/aquaculturenews/#nav1)>. Acesso em 20 março 2005.

MEEREN, T.V.D.P. and IVANNIKOV, V. Seasonal shift in spawning of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) by photoperiod manipulation: egg quality in relation to temperature and intensive larval rearing. **Aquaculture Research**, v. 37, p. 898–913, 2006.

MIGAUD, H. et al. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. **Aquaculture**, v. 241, p. 561–574, 2004.

MOURENTE, G.; MEGINA, C.; DÍAZ-SALVAGO, E. Lipids in female northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) during sexual maturation. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 24, p. 351–363, 2002.

MULLER, R.G. and TAYLOR, R.G. 2002. The 2002 stock assessment update of common snook, *Centropomus undecimalis*. Disponível em: <<http://floridamarine.org/>>. Acesso em: 04/03/2005.

MULLER, R.G. and TAYLOR, R.G.. The 2006 stock assessment update of common snook, *Centropomus undecimalis*. 2006. Disponível em: <<http://floridamarine.org/>>. Acesso em: 04 março 2007.

MIURA, T. et al. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. **Zool. Sci.**, v. 8, p. 63–73, 1991.

MYLONAS, C.C. and ZOHAR, Y. Use of GnRH $\alpha$ -delivery systems for the control of reproduction in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 10, p. 463–491, 2001.

NAGAE, M.; ADACHI, S.; YAMAUCHI, K. Changes in transcription of pituitary glycoprotein hormone  $\alpha$  and gonadotropin II $\beta$  subunits during ovarian development induced by repeated injections of salmon pituitary homogenate in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 17, p. 179–186, 1997.

NEIDIG, C.L. et al. Preliminary study - A comparison of doses of human chorionic gonadotropin (HCG) on ovulation, egg quality and larval survival in common snook, *Centropomus undecimalis* [Bloch] In: INT. SYMP. ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 6, 4-9 Jul, Bergen (Norway), 1999., Proceedings..., Bergen, University-of-Bergen. p. 429, 1999.

NORBERG, B. et al. Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, v. 229, p. 451–467, 2004.

NEVES, F.F. **Influência da frequência alimentar sobre o desempenho de juvenis de robalo peva *Centropomus parallelus***. 28 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, 2008.

OKAMOTO, M.; SAMPAIO, L.A.; MAÇADA, A.P. Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis da tainha *Mugil platanus* GÜNTHER, 1880. *Atlântica*, FURG, Rio Grande, 28(66 1): 61-66, 2006.

OHTA, H., et al. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Fish Physiology and Biochemistry**. V. 17, p. 163–169, 1997.

PANKHURST, N.W. and PORTER, M.J.R. Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 28, p. 385–389, 2003.

PATIÑO, R. and SULLIVAN, C.V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, p. 57-70, 2002.

PATRONA, L.D. **Contribution à la biologie du robalo *Centropomus parallelus* (Pisces Centropomidae) du sud-est du Brésil: possibilités aquacoles**. Toulouse: L'Institut National Polytechnique de Toulouse, França, 1984, 175p. Tese (Docteur de 3e Cycle) Sciences et techniques en Production Animale, L' Institut National Polytechnique de Toulouse, 1984.

PAVLIDIS, M. et al. Evidence of Temperature-Dependent Sex Determination in the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) **Journal of Experimental Zoology**, v. 287, p. 225–232, 2000.

PAVLIDIS, M. et al. Reproductive performance of common dentex, *Dentex dentex*, broodstock held under different photoperiod and constant temperature conditions. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 25, p. 171–180, 2001.

PEDERSEN, B. H. Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilization of the eggs. **Aquaculture**, v. 224, p. 323–338, 2003.

PEDERSEN, B. H. Fertilisation of eggs, rate of embryonic development and hatching following induced maturation of the European eel *Anguilla anguilla*. **Aquaculture**, v. 237, p. 461–473. 2004

PETERS, K.M.; MATHESON Jr, R.E.; TAYLOR, R.G. Reproduction and early life history of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), in Florida. **Bulletin of Marine Science**, v. 62: (2) p. 509–529, 1998.

PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture**, v. 197, p. 229–281, 2001.

REIS, M.A. e CERQUEIRA, V.R. Indução de desova do robalo-peva *Centropomus parallelus* Poey 1860, com diferentes doses de LHRHa. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 25, p. 53-59, 2003.

REYES, R., et al. Creación de un banco de progenitores de Róbalo *Centropomus undecimalis*, Bloch. Evaluación de alimentos artificiales. CIVA, p. 814-820, 2004. Disponível em: <<http://www.civa2004.org>> Acesso em: 10 março 2006.

RIVAS, L.R. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. **Copeia**, Lawrence, v. 3, p. 579-611, 1986.

ROBERTS, D.E. JR. et al. Source spawning common snook, *Centropomus undecimalis* circadian rhythms and hatchery management. **J. Wor. Aqua. Soc**, v. 19, n. 1, p. 60, 1988.



ROBERTS, S.B., et al. Annual reproductive cycle of the common snook: Endocrine correlates of maturation. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.128, p.436-445, 1999.

RODRÍGUEZ, L.; ZANUY, S.; CARRILLO, M. Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L) **Aquaculture**, v. 196, p. 159-175, 2001.

SABATÉS, A. et al. Sea warming and fish distribution: the case of the small pelagic fish, *Sardinella aurita*, in the western Mediterranean. **Global Change Biology**. v.12, p. 2209–2219, 2006.

SAILLANT, E. et al. Temperature Effects and Genotype-Temperature Interactions on Sex Determination in the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Journal of Experimental Zoology**, v. 292, p. 494–505, 2002.

SANCHES-ZAMORA, A. et al. Maturation and spawning of common snook: First experiences in Southeast Mexico. **World Aquaculture Magazine**, v. 33:1, p. 62-65, 2002.

SANCHEZ-ZAMORA, A. 2009. Status of the common snook reproduction in captivity at UMDI, UNAM, Sisal, UNAM, Yucatán, México. In: International Symposium on the Biology and Culture of Snooks, 2, Villahermosa, Mexico, 13-15/jul/2009, Resúmenes...CD-ROM.

SATO, N., et al. Development of an emulsion prepared with lipophilized gelatin and its application for hormone administration in the Japanese eel *Anguilla japonica*. **Fish Physiology and Biochemistry**. v. 17, p.171–178, 1997.

SCHULZ, R.W. et al. Gonadotropins, their receptors, and the regulation of testicular functions in Fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**. v.129, p. 407-417, 2001.

SCHULZ, R.W. and MIURA, T. Spermatogenesis and its endocrine regulation. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, p. 43-56, 2002.

SHIOTA, T.; ISHIMATSU, A.; K. SOYANO. Effects of temperature on gonadal development of mudskipper (*Periophthalmus modestus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 28, p. 445–446, 2003.

SKAPURA, D.P. et al. Induction of ovulation in common snook, *Centropomus undecimalis*, using gonadotropin-releasing hormones In: INT. SYMP. ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 6., 4-9 Jul/1999, Bergen (Norway). Proceedings... Bergen: University-of-Bergen. p. 430, 1999.

SOLIGO, T.A. et al. Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Cyrino, J. E. P., Scorvo Filho, J. D., Sampaio, L. A.; Cavalli, R. O. (Eds) **Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura II**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, 2008. p. 143 – 152.

SOUZA, J.H. **Avaliação do desempenho de juvenis robalo-peva *Centropomus parallelus*, alimentados com dietas práticas com diferentes concentrações protéicas** 2009, 35 f. Dissertação (Mestrado em aqüicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SOUZA, R.L.T.N. **Aspectos da reprodução do robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860 (Pisces, Centropomidae) da região cacauieira do estado da Bahia: um subsídio ao cultivo**. Salvador: U.F.Ba, 1988. 164p. Dissertação de Mestrado, Produção Aquática, Universidade Federal da Bahia, 164p. 1988.

TAMARU, C.S. et al. Effectiveness of chronic LHRH-analogue and 17 $\alpha$ -methyltestosterone therapy, administered at different times prior to the spawning season, on the maturation of milkfish (*Chanos chanos*). **Aquaculture**, v. 70, p.159-167, 1988.

TAMARU, C. S. et al. Effects of chronic LHRH-a + 17- $\alpha$  methyltestosterone or LHRH-a + testosterone therapy on oocyte growth in the striped mullet (*Mugil cephalus*). **General and Comparative Endocrinology**. v. 76, p. 114-127, 1989.

TARANGER, G.L. et al. Effects of photoperiod, temperature and GnRH $\alpha$  treatment on the reproductive physiology of Atlantic salmon

(*Salmo salar* L.) broodstock. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 28, p. 403–406, 2003.

TAYLOR, R.G.; GRIER, H.J.; WHITTINGTON, J.A. Spawning rhythms of common snook in Florida. **Journal of Fish Biology**, v. 53, p. 502-520, 1998.

TAYLOR, R.G. et al. Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coast of South Florida. **Fishery Bulletin**, v. 98, p. 612-624, 2000.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, v.11: 2, p. 107–184, 2003.

VIDAL, B, et al. Dopamine Inhibits Luteinizing Hormone Synthesis and Release in the Juvenile European Eel: A Neuroendocrine Lock for the Onset of Puberty. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 1491–1500, 2004.

VINATEA, L. Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura, segunda edição revisada e ampliada. 2. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. v. 1. 345 p.

VOLPE, A.V. Aspects of the biology of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), of southwest Florida. Florida State Board of Conservation Technical Series, n. 31, 37 p., 1959.

XIMENES-CARVALHO, M.O. **Idade e crescimento do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) e robalo-peva, *Centropomus parallelus* (Poey, 1860) (Osteichthyes: Centropomidae), no sudeste do Brasil.** 2006. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

WALLACE, R.A. et al. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in captive female snook, *Centropomus undecimalis*. **Aquaculture**, v. 116, p. 257-273, 1993.

YAMAMOTO, K.; YAMAUCHI, K. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. **Nature**, Lond. v. 251, p. 220–222, 1974.

YANES-ROCA, C. **Husbandry and larval rearing of common snook (*Centropomus undecimalis*)**. 2006. 271 f. Dissertação (Doutorado em Phylosophy) – Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, 2006.

YARON, Z. and SIVAN, B. Reproduction. In: Evans, D.H., Clairbourne, J.B. (Eds.), *The Physiology of Fishes*. RC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, p. 343–386, 2006.

ZANUY, S. et al. Effects of sustained administration of testosterone in prepuberal sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. **Aquaculture**, v. 177, p. 21–35, 1999.

ZIMMERMANN, S. e FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. 2004. v.1, p. 239-266.

ZOHAR, Y. and MYLONAS C. C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, v. 197, p. 99–136, 2001.