

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

ACOMPANHAMENTO DAS ATIVIDADES DE PROPAGAÇÃO
ARTIFICIAL DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*),
REVERSÃO SEXUAL E LARVICULTURA DA TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus* vr *chitralalda*).

FERNANDA BOTO MUNIZ

Relatório de Estágio Supervisionado
apresentado ao Departamento de
Engenharia de Pesca do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal do Ceará,
como parte das exigências para a obtenção
do título de Engenheiro de Pesca.

FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
DEZEMBRO/2004

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M935a Muniz, Fernanda Boto.
Acompanhamento das atividades de propagação artificial do tambaqui (*Colossoma macropomum*),
reversão sexual e larvicultura da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* vr *chitralalda*) / Fernanda Boto
Muniz. – 2004.
30 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2004.
Orientação: Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio.

1. Tilápia (Peixe) . 2. Tambaqui (Peixe). I. Título.

CDD 630

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Adjunto Alexandre Holanda Sampaio, Ph.D.
Orientador/Presidente

Eng. de Pesca Antônio Roberto Barreto, M. Sc.
Membro

Eng. de Pesca Henrique José Mascarenhas dos Santos Costa, M. Sc.
Membro

Orientador Técnico: _____
Prof. Adjunto José Wilson Calíope de Freitas, D. Sc.
Empresa ou Instituição

VISTO:

Prof. Adjunto José Wilson Calíope de Freitas, D. Sc.
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Profª Artemízia Maria Nogueira Montezuma, M. Sc.
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ele ter me dado força e coragem para continuar nos momentos mais difíceis da minha vida.

Aos meus pais, por sempre estarem ao meu lado me incentivando e me ajudando de todas as formas possíveis.

À minha irmã, Roberta, por seu exemplo, sua amizade, seu carinho, seu amor e seus conselhos.

Aos meus irmãos Raquel e Régis que sempre que puderam deram uma ajuda.

A minha família pelo amor e constante presença na minha vida.

Ao meu namorado, André, pelo carinho, compreensão e pela sua importante ajuda.

À minhas amigas de infância, Wigna e Ugneide, pelo companheirismo, apoio e incentivo, principalmente nas horas mais difíceis.

Aos meus amigos Pedro Jorge, Katiúscia e Geórgia que sempre levantaram minha moral, me aconselharam e me deram um ombro amigo

Aos meus incríveis amigos do bairro que são pessoas maravilhosas e sempre estiveram ao meu lado.

A todos os meus colegas de faculdade pela ajuda e pelos momentos inesquecíveis que vivemos, em especial à Ianna e à Irene.

A Prof^a Selma pelo incentivo nos primeiros anos de faculdade.

A Prof^a que me ensinou que o professor pode ser muito mais que um professor, pode ser amigo.

Ao Prof^o Calíope e ao Prof^o Alexandre por terem acreditado em mim e me aceitado como orientanda.

Ao Prof^o Roberto por sua ajuda tão fundamental, sua atenção e sua confiança.

Ao Engenheiro de Pesca Henrique pela atenção, ajuda e pela confiança.

Ao Seu Jonas, que sem ele esse estágio não seria possível.

A todos os funcionários da Estação de Piscicultura, pela atenção, respeito e ajuda.

Aos funcionários do DNOCS que sempre foram atenciosos e gentis.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
INTRODUÇÃO	1
2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	9
2.1. Coleta e preservação da hipófise	9
2.2. Propagação artificial do tambaqui	11
2.2.1. Seleção de reprodutores e reprodutrices	11
2.2.2. Biopsia Ovariana	12
2.2.3. Cálculo das doses hormonais e aplicações	14
2.2.4. Extrusão dos Óvulos de tambaqui hipofisados	17
2.3. Reversão sexual da tilápia do Nilo	19
2.3.1. Acasalamento	19
2.3.2. Coleta das pós-larvas	20
2.3.3. Sexagem dos reprodutores	21
2.3.4. Preparação e administração da ração para a reversão	21
2.3.5. Taxa de fecundidade, sobrevivência e eficiência na reversão	22
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
4. BIBLIOGRAFIA	25

RESUMO

Este relatório é o resultado de um curso sobre Propagação Artificial de Peixes Reofílicos realizado no Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) no Centro de Pesquisa em Aqüicultura Rodolpho von Ihering em Pentecostes – Ce, que apresentou a técnica de propagação artificial de peixes reofílicos usadas para a obtenção de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) já que este não se reproduz em cativeiro. Assim como um estágio na Estação de Piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa do Departamento de Engenharia de pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, onde foi demonstrada e técnica de reversão sexual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* vr. *chitralada*) para a obtenção de machos de pós-larvas com o intuito de fornecer pós-larvas revestidas ao produtores.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 01. CORTE TRANSVERSAL	10
FIGURA 02. CAPTURA DOS REPRODUTORES	11
FIGURA 03. INTRODUÇÃO DA SONDA NO ORIFÍCIO GENITAL DA FÊMEA	13
FIGURA 04. ÓVULOS NA PLACA DE PETRI Nº 4, Nº 6 E Nº 11	13
FIGURA 05. INSTRUMENTOS UTILIZADOS PARA A HIPOFISAÇÃO	14
FIGURA 06. APLICAÇÃO DO EXTRADO HIPOFISÁRIO	15
FIGURA 07. SUTURA DAS FÊMEAS	17
FIGURA 08. EXTRUSÃO DOS ÓVULOS	18
FIGURA 09. OVOS FERTILIZADOS	18
FIGURA 10. INCUBADORAS	19

ACOMPANHAMENTO DAS ATIVIDADES DE PROPAGAÇÃO ARTIFICIAL DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*), REVERSÃO SEXUAL E LARVICULTURA DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* vr. *chitralada*).

FERNANDA BOTO MUNIZ

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Iniciais

Reprodução é o processo pelo qual uma espécie se perpetua, transmitindo a seus descendentes as mudanças genéticas que lhes foram impostas pelas variações ambientais.

Estratégia reprodutiva é o conjunto de características que uma espécie deverá manifestar para ter sucesso na reprodução, de modo a garantir o equilíbrio da população. Para tanto, o ambiente tem papel fundamental para tornar uma espécie apta ou não àquela região. Segundo VIEIRA, 2001 os fatores que fundamentam as estratégias de reprodução são:

- Modo como algumas espécies utilizam os recursos energéticos;
- Desencadeamento do processo hormonal;
- Tipo de fecundação: interna ou externa;
- Estilo reprodutivo, se não guardadores, guardadores ou carregadores;
- Comprimento e idade da primeira maturação gonadal;
- Época(s) de desova;
- Número de período reprodutivo durante o tempo de vida da espécie;
- Tipo de desenvolvimento ovocitário;
- Tipo de desova relacionado com o tipo de desenvolvimento ovocitário;
- Fecundidade, tamanho do indivíduo e condições ambientais;

- Tempo de incubação e período de eclosão que varia com as características de cada espécie (VAZZOLER, 1996)

Os conhecimentos do ciclo biológico e das características reprodutivas das espécies são à base de toda exploração na piscicultura, refletindo no estabelecimento de manejos adequados na reprodução e na larvicultura (DIAZ, 1989 citado por VIEIRA, 2001).

1.2. Tambaqui

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é originário da bacia amazônica, tendo sido introduzido no Nordeste brasileiro pelo DNOCS, em 1966 com o traslado feito pelo DNOCS de 24 alevinos procedentes de Manaus, Amazônia (LOPES; FONTENELE, 1982 citado por SOBRINHO; MELO; SILVA; NOBRE, 1989). Contudo, foi em 1972, com o traslado, ainda pelo DNOCS, de 74 alevinos da espécie, oriundos de Iquitos, Peru, que se iniciou a colossomicultura nesta região (GURGEL; SILVA, 1989 citado por SOBRINHO; MELO; SILVA; NOBRE, 1989).

Todos os autores recomendam especialmente o tambaqui para incorporar à piscicultura. Os experimentos dos técnicos do DNOCS também indicam definitivamente essa atitude, na criação de piscigranjas e viveiros demonstrando boas características para ser um excelente peixe de cultivo: onívoro, cresce rápido, rústico, convive em paz com outros peixes, carne excelente, etc. Policultivo pode ser a forma mais propícia de cultivo do tambaqui (WOYNAROVICH, 1988). Segundo o mesmo autor não há experiências sobre a sensibilidade térmica dos tambaquis. Como um peixe tropical, é possível que seu apetite abaixe com a temperatura até um limite quando praticamente para de se alimentar. A baixo deste limite, é possível que temperaturas mais baixas sejam fatais ao tambaqui.

O tambaqui possui desova parcelada, desovando em rios brancos, que transportam imensas quantidades de lama fina que causa alta turbidez e a cor "branca". Esses rios apresentam bastante nutrientes, conseqüentemente as

lagoas marginais de várzea de inundação têm relativamente alto nível de produtividade de fito e zooplâncton (WOYNAROVICH, 1988).

Os tambaquis alcançam maturidade sexual muito tarde comparados com outros peixes de cultivo. Os machos alcançam a maturidade sexual com três anos e as fêmeas com quatro (segundo algumas observações, as fêmeas preparam-se para a propagação com cinco anos em ambiente natural) (WOYNAROVICH, 1988).

A desova, que acontece durante as primeiras enchentes, nos rios brancos, quando as áreas marginais também inundam, provavelmente é nas proximidades de canais naturais, através dos quais as várzeas e lagoas marginais são inundadas. Isto é uma instintiva providência e cuidado parental dos tambaquis assegurando uma possível boa área de nutrição aos seus descendentes (WOYNAROVICH, 1988). Por serem peixes que apresentam essas características (peixes reofílicos) eles não se reproduzem em cativeiro, utilizando-se a propagação artificial para a obtenção de suas larvas.

Quando começa a migração em junho e julho até outubro, os ovários das fêmeas não estão desenvolvidos. A época de desova acontece entre novembro e fevereiro, quando as circunstâncias ambientais são propícias.

No Centro de Pesquisa do DNOCS, a reprodução induzida foi tentada pela primeira vez em 1974, obtendo ovulação, mas por falta de espermatozoides não ocorreu fertilização. Ao mesmo tempo obtiveram ovos artificialmente fertilizados de pirapitinga que não passaram da fase de 32 células e morreram (WOYNAROVICH, 1988).

Em fevereiro de 1977, puderam obter ovos fertilizados e, enfim, alevinos criados em Pentecostes (DNOCS). No DNOCS os investigadores desenvolveram suas técnicas de propagação artificial com que alcançaram bom êxito. A Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), no ano de 1983, contando com assistência de técnicos da AGROBER/AGROINVEST, iniciou, a partir de experiências colhidas na Venezuela, a elaboração de uma tecnologia própria de propagação artificial de tambaqui, independentemente dos resultados obtidos no DNOCS (WOYNAROVICH, 1988).

A hipofisação é um conjunto de técnicas empregadas na aplicação de hormônios hipofisários ou artificiais, em peixes sexualmente maduros (fêmeas completadas a vitelogênese e machos expelindo semêm), visando provocar a maturação final e ovulação nas fêmeas e emissão de líquido espermático pelos machos, em condições de fecundação. Muito embora o termo hipofisação seja confundido com propagação artificial, na realidade aquela se constitui numa etapa desta (GURGEL; SILVA, 1984).

Extrusão é uma técnica que consiste na coleta dos óvulos e semêm diretamente de ovários e testículos, mediante pressões exercidas na região ventral dos peixes, na direção do orifício genital. Tecnicamente pode-se prever quando tempo levam as fêmeas para ovularem, após aplicação da segunda dose hormonal e se possa, com sucesso, fazer a extrusão. Este tempo é chamado hora/grau e é definido como a soma das temperaturas da água do tanque onde se encontram reprodutores e reprodutrices obtidas em cada hora decorrida após a injeção da segunda dose hormonal dos peixes (GURGEL; SILVA, 1984).

A velocidade dos processos fisiológicos, muito complicados, da maturação final e ovulação acontecem de acordo com a temperatura do ambiente. A temperatura alta acelera, a temperatura baixa retarda os processos fisiológicos, dentro de certos limites (WOYNAROVICH, 1988).

A hora/grau para a extrusão do tambaqui varia de 260 a 280, quando a temperatura oscila entre 25°C e 30°C (GURGEL; SILVA, 1984).

A ovulação e desova induzida alcançada através da hipofisação, equivale a "um atalho" do processo natural. Na natureza, a ovulação de um peixe é regulada e ocasionada por seu(s) próprio(s) hormônio(s) gonadotrópico(s), produzidos e armazenados na glândula pituitária. O hormônio armazenado é liberado no sangue quando todas as condições exigidas se tornam favoráveis. Na técnica de hipofisação, contudo o hormônio gonadotrópico extraído da pituitária de algum outro peixe (doador) é injetado no reprodutor, resultando a maturação final e ovulação. A indução do hormônio liberador (LRH ou LH-RH) também provoca a maturação final e ovulação. Neste caso o reprodutor utiliza hormônio gonadotrópico produzido por ele mesmo (WOYNAROVICH; HORVÁTH, 1989).

A propagação dos peixes, naturais ou artificial, é dirigida pelos hormônios sexuais. As ações são exercidas pelo hipotálamo, pela hipófise e pelos ovários ou testículos (GURGEL; SILVA, 1984).

Segundo o mesmo autor o hipotálamo é o organizador do processo reprodutivo, mantendo a conexão entre o meio ambiente e o organismo do peixe. As informações do meio ambiente são captadas através dos órgãos dos sentidos, sendo processado no hipotálamo. Este nos peixes secreta os seguintes hormônios de importância para a reprodução: Folículo-estimulante (FH-RH ou FSH) que estimula e dirige a vitelogênese, atuando no hipotálamo para a hipófise e o Liberador ou Luteinizante (LH-RH) que atua no hipotálamo para a hipófise, sendo responsável pela liberação de gonadotrópinas por esta última glândula. Este hormônio tem um inibidor, conhecido por LH-RHIF, quando ele é injetado nos peixes desencadeia a ação do LH-RH e a conseqüente ação da hipófise, que passa a secretar os hormônios gonadotrópicos, da mesma maneira ocorre quando o hipotálamo recebe estímulos positivos do meio ambiente para a desova, fazendo com que o mesmo iniba o LH-RHIF e os hormônios FH-RH e LH-RH estimulem a hipófise.

1.3. Tilápias

Pelo nome genérico de "tilápia" se conhece um grupo de peixes de água doce da família Cichlidae nativas do continente africano e da Ásia Menor. A primeira espécie que chegou ao Brasil foi a *Tilápia rendalli*, em 1952, proveniente da República Democrática do Congo (GURGEL, 1998 citado por MATOS, 2003). Esta tilápia dita do Congo foi introduzida no Brasil com vista ao combate da intensa vegetação presente nas empresas hidroelétricas, já que é herbívora, bem como objetivando ser utilizada na expansão da piscicultura nacional (SILVA, 2001 citado por MATOS, 2003).

A tilápia do Congo chegou ao Nordeste em 1957 trazida pelo Departamento Nacional de Obras Contra A Seca (DNOCS), que introduziu no nosso país as

tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis hornorum*), mas precisamente no Centro de Pesquisa em Aqüicultura Rodolpho von Ihering, em Pentecostes, CE. O Objetivo da introdução da tilápia do Nilo e Zanzibar foram obter híbridos 100% machos, através do cruzamento entre as duas espécies, e o povoamento de águas interiores do Nordeste, exclusivamente com tilápias do Nilo (GURGEL; SILVA, 1984).

Em novembro de 2002, técnicos do DNOCS trouxeram para o Centro de Pesquisa em Aqüicultura Rodolpho von Ihering 10.000 alevinos de tilápia do Nilo, linhagem tailandesa, proveniente do *Asian Institute Technologi* (AIT), na Tailândia. A introdução desses alevinos possibilitará a formação de planteis de reprodutores e reprodutrices F1, que serão distribuídos entre os produtores de alevinos, devidamente capacitados, de forma a obter produtividades maiores no que se refere a produção de pós-larvas na reversão sexual da espécie bem como a manutenção dos padrões genéticos dos reprodutores e reprodutrices distribuídos (MATOS, 2003).

A tilápia do Nilo apresenta desova parcelada, com primeira maturação gonadal bastante precoce. Em nossas condições climáticas com quatro a seis meses de vida e menos de 15cm de comprimento total, dependendo das condições nutritivas. As fêmeas fazem a incubação oral dos ovos e os machos cavam ninhos. Em um dos ninhos a fêmea das tilápias do Nilo deposita seus óvulos, os quais são, concomitantemente, fecundados pelo macho, que lança sobre eles o semêm. Concluída a desova, a fêmea aspira os ovos para a boca, fazendo a incubação oral (GURGEL; SILVA, 1984). Sendo uma espécie de estilo reprodutivo guardadora.

Esta espécie se destaca das demais pelo crescimento mais rápido, reprodução mais tardia (permitindo alcançar maior tamanho antes da primeira reprodução) e alta prolificidade (possibilitando produção de grandes quantidades de alevinos) (KUBTIZA, 2000).

Segundo Kubitza (2000) as temperaturas mínimas letais para a tilápia do Nilo variam de 8°C a 13°C, dependendo da adaptação. Com relação a temperatura máxima letal para a tilápia do Nilo, esta pode variar de 38°C a 44°C, quando

aclimatadas em temperaturas de 15°C a 35°C, respectivamente. Com relação a salinidade, o crescimento é maximizado em águas com 10g a 12g de sal/litro, no entanto esta espécie não é capaz de se reproduzir em água salgada (32g/litro).

Kubtiza (2000) diz que no manuseio e na despesca, a tilápia do Nilo não é uma das espécies mais agradáveis de se trabalhar, principalmente em viveiros, são peixes ariscos e difíceis de serem capturados. Algumas linhagens, como a "tilápia tailandesa" (chitralada) parecem mais dóceis. Com a estratégia de coleta dos ovos da boca das fêmeas para a incubação artificial, houve uma seleção não intencional favorecendo a manutenção de peixes mais dóceis no plantel. As fêmeas muito agitadas expeliam os ovos da boca e estes acabavam deixando de ser coletados e incubados. Assim, pouco a pouco, estes peixes nervosos ficam cada vez menos números no plantel, restando em sua maioria peixes mais tranquilos.

O cultivo de tilápia monosexo é praticamente mandatário em pisciculturas comerciais que objetivam a produção de peixe com peso médio de 400g. As tilápias atingem maturidade sexual entre o 4º ao 6º mês de vida. Assim, os peixes inicialmente estocados podem se reproduzir e superpovoar viveiros e tanques de produção antes mesmo de atingirem peso comercial. O excesso de peixes advindos da reprodução acentua a competição pelo alimento natural e pela ração, resultando em redução ou paralisação do crescimento (KUBITZA, 2000).

Segundo Kubtiza (2000) as fêmeas de tilápias desovam freqüentemente, desviando grande parte da energia, que poderia ser utilizada no crescimento, para a produção de óvulos. Adicionalmente as fêmeas incubam os ovos e protegem as larvas na boca ficando praticamente sem se alimentar. Estas são as principais razões da diferença de crescimento entre machos e fêmeas. Assim, as estratégias para obter populações monossexo estão focadas na produção de lotes de alevinos masculinos.

Kubitza (2000), diz que diversas estratégias de produção de populações masculinas de tilápias foram desenvolvidas. A mais utilizada comercialmente é a reversão hormonal do sexo. Na reversão sexual, as pós-larvas de tilápia (em idade na qual o sexo ainda se encontra indefinido) são alimentadas, por períodos de 21

à 28 dias, com ração contendo hormônio masculinizante. Outros métodos de obtenção de populações masculinas utilizam: a separação manual ou mecânica (gradagem) de machos e fêmea juvenis; o cruzamento de algumas espécies de tilápias que resultam em alevinos com proporção de machos entre 70% a 100%; e a produção do supermacho, que utiliza etapas de reversão hormonal do sexo, cruzamentos controlado e teste progênie.

Na década de 90, passou-se a adotar o cultivo de machos de tilápia do Nilo obtidos através da reversão sexual em substituição ao cultivo de machos sexados. Contribuiu para isto, problemas na produção de híbridos de tilápias erros e perdas de alevinos na sexagem de tilápias do Nilo, as boas linhagens e a divulgação do método de reversão sexual de tilápias mediante o tratamento de pós-larvas com hormônios andrógenos (ZIMMERMANN, 1999 citado por MATOS, 2003).

A técnica de reversão sexual consiste na inversão do sexo das larvas de tilápia mediante tratamento com hormônio 17- α -metiltestosterona, incorporado a ração. Existem dois fatores, que ligados à determinação do sexo de tilápias, possibilitam o emprego eficaz da técnica de reversão sexual. Primeiro, está relacionado com a definição do sexo dos alevinos, que é efetivado entre três a quatro semanas após a eclosão, quando os alevinos possuem de 18 a 20cm de comprimento. Segundo, é que o sexo é bem instável e logo após a eclosão pode ser afetado por fatores externos (LUND; FIGUEIRA, 1989).

Segundo os mesmos autores, as vantagens da reversão sexual são a diminuição ou eliminação da reprodução, a obtenção de alta produção, devido ao melhor crescimento dos machos e a utilização de altas taxas de estocagem durante o tratamento.

O presente Estágio Supervisionado teve como objetivo acompanhar as atividades diárias relacionadas com a propagação artificial e reversão sexual de espécies de peixes importantes na piscicultura de água doce.

2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

No período de 31 de maio e 1º de junho de 2004, foram desenvolvidas atividades em caráter de estágio supervisionado nas instalações do Centro de Pesquisa em Aqüicultura Rodolpho von Ihering do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS, localizado no município de Pentecostes, Estado do Ceará, relacionadas ao manejo na propagação artificial do tambaqui (*Colossoma macropomum*).

No período de 10 de setembro e 5 de novembro de 2004, foram realizadas atividades relacionadas ao manejo aplicado na reversão sexual e larvicultura da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* vr. *chitralada*), na Estação de Piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa do Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

A Estação de Piscicultura consta de um prédio que abriga dois escritórios, um depósito onde é guardado a ração e os utensílios utilizados nos trabalhos no dia-a-dia da Estação; uma bancada revestida de azulejo, utilizada para a manipulação dos peixes, e quadro tanques, onde ficam os alevinos descartados para a reversão sexual. Existem dois tanques de 20m², cada, onde os alevinos são revertidos; quatro tanques onde reprodutores ficam em repouso reprodutivo, dois tanques para as fêmeas e dois tanques para os machos; e dois tanques de 200m² onde é realizado o acasalamento.

2.1. Coleta e preservação da hipófise

Não há especificidade de sexo nem de espécie, para o uso de hipófises, nos trabalhos realizados. Nos trabalhos realizados no Centro de Pesquisa do DNOCS utilizaram-se hipófises importadas de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

As condições para que um peixe doe hipófise é que esteja em bom estado de conservação, isto é, fresco e que suas gônadas se apresentem desenvolvidas.

A extração da hipófise de peixe resume-se na execução de uma craneotomia, visando atingir a sela túrcica do osso esfenóide (onde se encontra protegida a hipófise), localizada exatamente sob o encéfalo (FONTENELE, 1981).

O peixe é imobilizado numa calha de contenção e, com auxílio de um arco com serra, dava-se um corte transversal na cabeça, pouco atrás das órbitas sem separá-las; na seqüência, retirava-se uma seção triangular, com base no bordo anterior do corte da serra; finalmente, utilizava-se uma pinça para afastar o encéfalo, rompendo assim a membrana que protegia a hipófise e a conseqüente retirada da glândula com uma pinça (Figura 01).

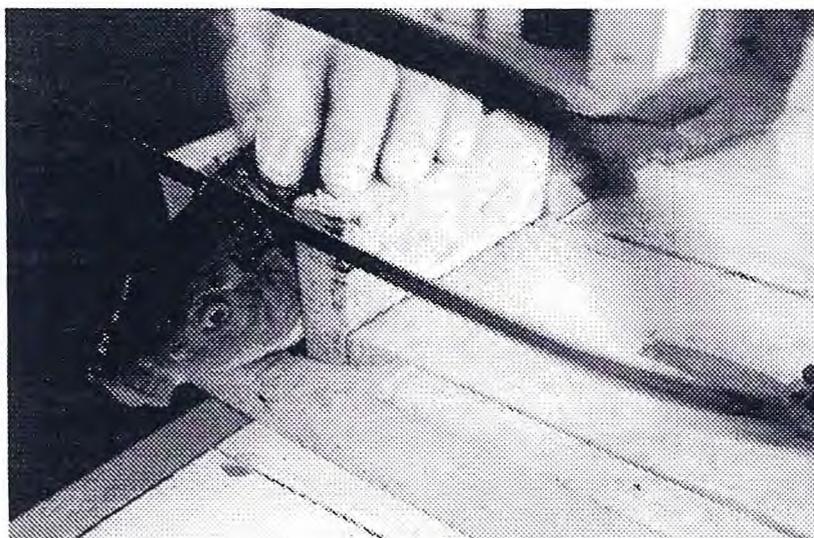


FIGURA 01 - Corte transversal

A pós coletar o número necessário de glândulas, a acetona na qual as glândulas são mantidas, é retirada e adiciona-se mais acetona. A acetona é novamente substituída após 8 – 12h. No dia seguinte, quando as glândulas já tiverem permanecido por um total de 24 horas, a acetona é escoada e as glândulas são secadas num tecido de papel. A acetona desidratada retira a gordura das glândulas. As glândulas dessecadas são colocadas num frasco de vidro, pressionadas com um chumaço de algodão, arrolhadas firmemente e

lacradas com cera. As glândulas dessecadas com acetona podem ser armazenadas pelo menos por cinco a oito anos, se forem mantidas livre de umidade (WOYNAROVICH; HORVÁTH, 1989).

2.2. Propagação artificial do tabaqui

2.2.1. Seleção de reprodutores e reprodutrizes

Os reprodutores e reprodutrizes foram capturados com rede de arrasto nos viveiros de 2.500m², onde estavam estocados (Figura 02).

Foram capturadas cinco fêmeas e quatro machos para a avaliação do estado gonadal, pesagem e marcação.

A avaliação do estado gonadal dos machos consistiu numa leve pressão na região latero-ventral-inferior, próxima a abertura genital e no sentido desta, a fim de ser verificada a existência de esperma nos testículos. Quando maduro, o liquido espermático expelido é bastante fluido. Os quatros machos capturados mostraram-se maduros sexualmente e aptos a serem hipofisados, sendo então procedido à pesagem de cada indivíduo.



FIGURA 02 - Captura dos Reprodutores

A escolha das fêmeas adequadas para o processo reprodutivo foi realizada através da observação ventral, escolhendo-se indivíduos que apresentaram o ventre bem abaulado, na qual a genitália se encontrava dilatada e pigmentada de vermelho. As fêmeas capturadas foram marcadas, pesadas e seus óvulos coletados em placas de Petri enumeradas (Tabela 01).

TABELA 01. Dados relativos aos indivíduos de sexo feminino de tambaqui.

FÊMEAS	Nº DA MARCAÇÃO	Nº DA PLACA DE PETRI	PESO (g)
1	2096	1	8.980
2	2098	2	9.340
3	2076	4	7.420
4	2089	6	10.800
5	2078	11	6.820

O objetivo da marcação é relacionar as fêmeas com os óvulos coletados e seu peso. Para este fim utilizou-se fio de poliamida com marcas plásticas onde estavam gravados os números, o nome da Unidade de Pesquisa e sua localização.

2.2.2. Biopsia Ovariana

Para uma melhor eficiência da hipofiseção, indicando o número de hipófises que devem ser usadas no processo, o DNOCS desenvolveu uma técnica que consiste em coletar os óvulos das fêmeas, que apriori foram consideradas sexualmente maduras. Esta técnica consiste na observação dos óvulos ao microscópio para a visualização do núcleo das células com o objetivo de saber sua localização (se na região central ou migrando para esta).

A coleta foi feita introduzindo uma sonda uretral acoplada a uma seringa no orifício genital da fêmea (Figura 03), os óvulos coletados das fêmeas (Figura 04)

foram fixados com solução de Serra (60% de álcool, 30% de formol a 40% e 10% de ácido acético), permitindo a visualização do núcleo e indicaram que as fêmeas três e quatro possuíam 70% de suas células com o núcleo central e 30% com o núcleo migrando.

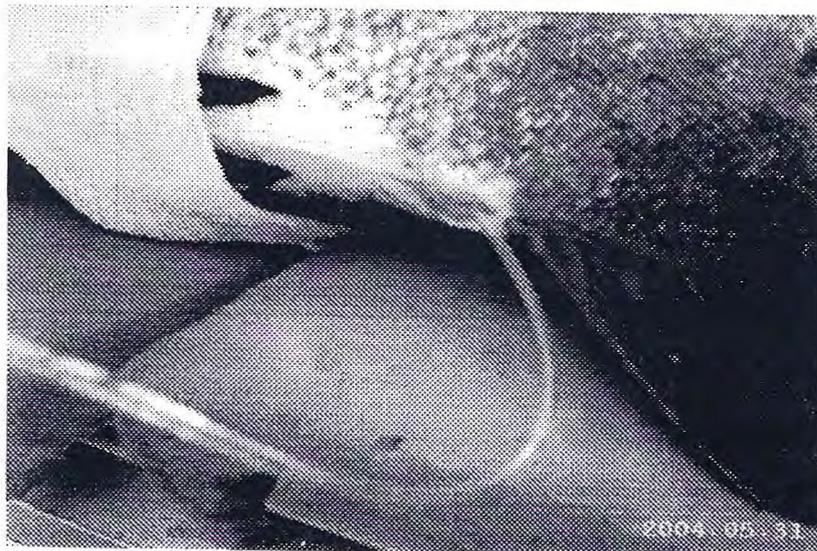


FIGURA 03 - Introdução da sonda no orifício genital da fêmea.



FIGURA 04 - Óvulos na placa de Petri N° 4, N° 6 e N° 11

2.2.3. Cálculo das Doses Hormonais e Aplicação

Para a preparação da aplicação da dose hormonal foram utilizados os seguintes materiais (Figura 05): gral com pistilo, seringa de 3mL e 5mL, fio poliamida 210/6, marcas plásticas, porta agulhas, tesoura cirúrgica, agulhas de sutura N°6 e N°8, placa de Petri e hipófises secas de carpa comum.



FIGURA 05 - Instrumentos utilizados na hipofiseção

Cada fêmea recebeu dose total de 5mg/kg de peso corporal (TABELA 02), sendo dividido em duas doses: 10% na primeira e 90% na segunda aplicação. Segundo VIEIRA, 2001, a 1ª dose funciona provocando a maturação de todo o conteúdo ovariano, e a 2ª dose promove a expulsão de todo o material reprodutivo. Os machos receberam 2,0mg de hipófise seca por quilo de peso corporal (TABELA 02) em uma única aplicação juntamente com a aplicação da 2ª dose das fêmeas (Figura 06).

TABELA 02. Cálculo da dose segundo o peso vivo.

PESO VIVO DE PEIXE (Kg)	PESO DA HIPÓFISE POR Kg DE PESO DO PEIXE (mg/kg)
Até 7	5
Até 8	5,3
Até 9	5,6
Até 10	6
11	6,3
12	6,6

Fonte: Tambaqui e Pirapitinga. Propagação artificial e criação de alevinos



FIGURA 06 - Aplicação do estrato hipofisário

Para se saber o número de hipófises que serão aplicadas nas fêmeas, os pesos individuais foram somados (18,2kg) e multiplicados por cinco, que é a quantidade de hipófise seca que as fêmeas recebem por quilo de peso, o resultado dessa multiplicação, foi dividido por seis (peso da hipófise em miligrama). Tendo como resultado 15 hipófises a serem utilizadas para a aplicação das duas doses. As hipófises são diluídas em soro fisiológico, onde, para cada kg de peixe, utiliza-se 0,5mL de soro fisiológico. Tendo sido escolhida duas fêmeas, uma pesando 7,4kg e a outra pesando 10,8kg, utiliza-se 1,8mL e 2,2mL de soro, respectivamente.

Nas fêmeas selecionadas, utilizaram-se duas hipófises (aproximadamente 10% da dose total) diluídas em 4mL (soma das quantidades individuais) de soro fisiológico, na 1ª dose, que foi aplicada às 14h do dia 31/05. Na 2ª dose, utilizaram-se 13 hipófises (aproximadamente 90% da dose total) diluída em 4mL de soro fisiológico, sendo esta aplicada às 8h do dia 01/06, dezoito horas depois da aplicação da primeira dose. Somente a fêmea três recebeu a segunda dose pois a fêmea quatro desovou antes de segunda dose.

Para os quatro machos selecionados foram utilizadas seis hipófises, resultante da soma total de seus pesos (aproximadamente 20kg), multiplicado pela quantidade de hormônio utilizada por quilo de peso corporal (2,0mg) dividido pelo peso da hipófise (6mg), diluídas em 5mL de soro fisiológico em uma única aplicação junto com a segunda dose das fêmeas.

Após a aplicação de segunda dose nas fêmeas foi realizada a sutura na papila genital (Figura 07) para evitar que ela desovasse no tanque de manuseio ocasionando a perda do conteúdo ovariano, pois a água provoca um aumento no volume dos óvulos fechando a micrópila impedindo a penetração do espermatozóide.



FIGURA 07 - Sutura das fêmeas

2.2.4. Extrusão dos Óvulos de Tambaqui Hipofisado

Foi observado através da hora/grau que a fêmea três estava pronta para a extrusão dos óvulos, sendo levada até a mesa de manuseio para a retirada da sutura, e com uma leve pressão no abdome expulsou o conteúdo ovariano, que foi recolhido numa bacia plástica (Figura 08) e pesados resultando em 1kg de óvulos, onde segundo Woynarovich (1988), 1g de óvulos secos contém 1.338 unidades de óvulos.

Como foi utilizada somente uma fêmea, a coleta do sêmen foi realizada apenas em dois machos, aqueles que apresentaram por observação, a melhor fluidez do liquido espermático. O sêmen recolhido foi misturado aos óvulos que estavam na bacia, sendo então adicionada um pouco de água para dar motilidade aos espermatozoides, seguido de uma homogeneização realizada com o auxílio de uma colher (Figura 09).

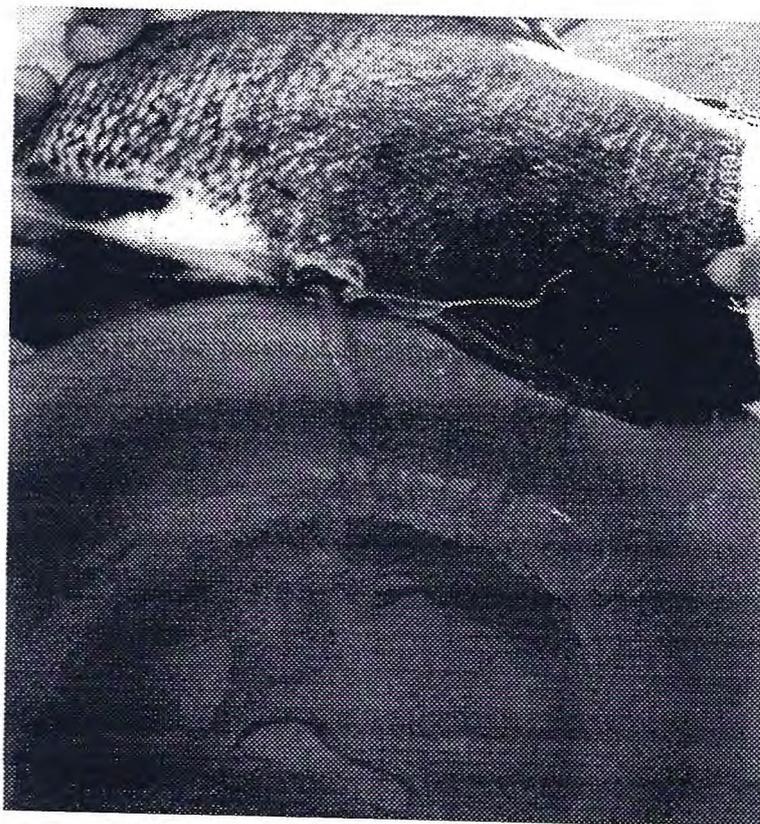


FIGURA 8 - Extrusão dos Óvulos

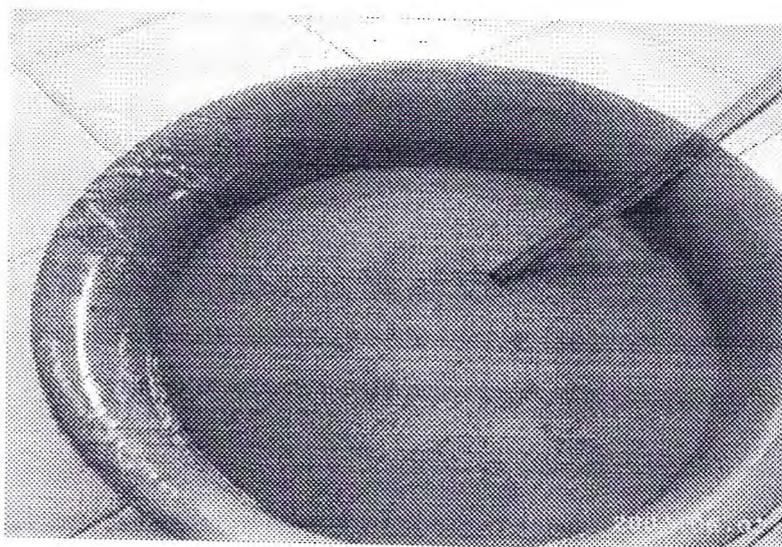


FIGURA 09 - Ovos Fertilizados

Ovos já fecundados foram levados para incubadoras tipo funil (Figura 10) com renovação constante de água, promovendo assim uma maior oxigenação aos ovos incubados. Geralmente, a taxa de fertilização gira entre 60% a 95% (KUBITZA, 2004). A eclosão dos ovos ocorre em torno de 13 a 17h após a fecundação, após três dias da eclosão, as larvas devem ser transferidas para viveiros de alevinagem (DOURADO,1988).



FIGURAS 10 - Incubadoras Utilizadas

2.3. Reversão sexual da tilápia do Nilo

2.3.1. Acasalamento

Dentre os inúmeros fatores que interferem na eficiência produção de ovos e pós-larvas das tilápias, destacam-se: a temperatura da água; o estado nutricional dos reprodutores; a densidade de estocagem, a razão sexual e as interações sociais na reprodução; as estratégias de coletas de ovos e/ou pós-larvas; o fotoperíodo e a luminosidade; a ocorrência de canibalismo entre pós-larvas e alevinos (KUBTIZA, 2000).

O acasalamento foi iniciado no dia 10 de setembro com a estocagem de 85 fêmeas em um tanque de 200m² com uma biomassa total de 63.650g, correspondendo a 150g/m². As fêmeas foram alimentadas durante sete dias com ração a 3% da biomassa: 950g de ração dividida em duas refeições, 475g de ração por refeição.

Após o período de estocagem das fêmeas, 50 machos (em tomo de duas fêmeas para cada macho) foram capturados e colocados no tanque de acasalamento. A partir deste momento, não foi mais fornecida alimentação aos peixes, já que as fêmeas de tilápia do Nilo incubam os ovos na boca deixando de se alimentar durante esse período.

2.3.2. Coleta das Pós-larvas

A técnica para a obtenção de larvas utilizada foi a coleta de nuvens, que consiste em capturar os cardumes de alevinos que nadam na superfície, com o auxílio de um puçá confeccionado com tela plástica com abertura de malha de 1mm, 21 dias após a estocagem dos machos no tanque de acasalamento. Segundo Amorim (1999) citado por Matos (2003), a seleção das pl's após a captura é feita com um selecionador do tipo peneira, com malhas de 2,8 a 3,0 mm de malha sendo descartadas as larvas que ficaram retidas, pois, teoricamente, esses indivíduos já teriam definido o sexo.

Após a coleta dos cardumes de pós-larvas que nadam na superfície, o viveiro é drenado enquanto se realiza a coleta total dos reprodutores e pós-larvas. Depois de concentrados na caixa de coleta, é realizada a sexagem dos reprodutores, que transferidos para os tanques onde ficam em repouso, e a captura do restante das pós-larvas, que são selecionadas e levadas para o tanque de reversão.

As larvas que passaram no selecionador apresentaram comprimento médio de 10mm e peso médio de 0,02g, correspondendo então que 1.000 larvas apresentariam o peso em tomo de 20g. Foram então separados 1.460g,

correspondendo aproximadamente a 73.000 alevinos estocados em um tanque de 20 m², ou seja, 3.650 alevinos/m².

2.3.3. Sexagem dos Reprodutores

A diferenciação entre machos e fêmeas de tilápia do Nilo é feita através da observação da papila urogenital. Machos apresentam a papila mais afastada do ânus, com formato mais afilado na extremidade posterior (comparado à das fêmeas), e com apenas um único orifício por onde passa tanto a urina como o sêmem. As fêmeas apresentam a papila urogenital mais próxima ao ânus, sendo esta de formato mais arredondado no formato posterior (comparada à dos machos), e com dois orifícios: a uretra (para excreção de urina) e o oviduto (para a saída dos óvulos) (KUBTIZA, 2000).

Segundo o mesmo autor, outra característica notável nas fêmeas é a expansão e o escurecimento da região gular (região inferior a cabeça, entre o opérculo e a boca, equivalente ao que poderíamos chamar de papo). Isto ocorre devido a incubação oral dos ovos. Durante o período de reprodução os machos de tilápia do Nilo apresentam uma coloração mais rosada na região ventral da cabeça e na extremidade da nadadeira caudal.

2.3.4. Preparo e administração da ração para a reversão

A ração, em forma de pó, utilizada para a reversão sexual possuía 50% de proteína bruta.

Inicialmente foi preparada uma solução estoque com 6g de hormônio diluído em 1L de álcool a 96%, sendo então armazenada em um vidro escuro e conservada em geladeira, com tempo de validade de até três meses. Para o preparo de 1kg de ração utilizou-se 10mL da solução estoque misturada com 500mL de álcool, em seguida acrescentou-se a ração previamente pesada, mexendo sempre com as mãos até a mistura estar bem homogeneizada. Para este trabalho é necessária a utilização de luvas e máscara para evitar o contato

direto com o hormônio. além de evitar que a gordura das mãos se incorpore a este hormônio.

Depois de efetuada a mistura e homogeneização, a ração foi levada para secar à sombra, espalhada em camadas finas de até 5cm de espessura por um período de 24h. Após a secagem, a ração foi acondicionada em vidros, e estocada em refrigerador doméstico por um período máximo de três meses.

A duração do processo de reversão sexual durou quatro semanas e a administração da ração foi realizada de acordo com os dados fornecidos na Tabela 2. A ração com metiltestosterona é fornecida em cinco a seis refeições diárias (KUBTIZA, 2000).

TABELA 3. Arraçoamento dos alevinos de tilápia durante a reversão sexual.

SEMANAS	RAÇÃO (g/dia/1000 PL's)	RAÇÃO OFERTADA (g)
9/10 a 15/10	4	192
16/10 a 22/10	6	438
23/10 a 29/10	8	584
30/10 a 05/11	12	876

2.3.5. Taxa de fecundidade, sobrevivência e eficiência da reversão

Segundo Nobre (2001), a eficácia da reversão sexual de tilápias fica acima de 95% de indivíduos machos. A eficiência da reversão sexual na Estação de Piscicultura é de 97% (MATOS, 2003).

As tilápias possuem baixa fecundidade absoluta: 1 a 4 pós-larvas/g de peso vivo da fêmea, no caso de coleta total de pós-larvas (KUBTIZA, 2000). O peso total das fêmeas utilizadas foi de 63.650g, perfazendo no total de 254.600 óvulos liberados, aproximadamente. Sendo a taxa de fecundidade em torno de 30%.

Os resultados obtidos durante o processo de reversão sexual realizado na estação de piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa, mostrou que a taxa

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambas as técnicas vem se mostrando como um ótimo mecanismo para a obtenção de alevinos de tilápias do Nilo e tambaqui, que são importantes peixes para a aquicultura no nosso país.

A propagação artificial é uma técnica que apresenta as vantagens de melhores taxas de fertilização e eclosão, proteção contra inimigos e condições ambientais desfavoráveis e melhores condições de crescimento e sobrevivência (WOYNAROVICH; HORVÁTH, 1989).

Das cinco fêmeas de tambaqui capturadas apenas duas foram consideradas aptas para a hipofiseção o que pode estar relacionado com período em que os trabalhos foram realizados (abril – junho), depois do período reprodutivo das espécies (novembro – fevereiro).

O maior problema na reversão sexual é a incerteza quando a idade das larvas o que pode prejudicar o sucesso da reversão. Na Estação de Piscicultura Raimundo Saraiva da Costa, foi utilizado um selecionador com malha de 4mm enquanto a literatura aconselha o uso de selecionadores com malhas entre 2,8 a 3,0mm o que pode prejudicar a eficiência da reversão.

Outro problema da Estação de Piscicultura Raimundo Saraiva da Costa está relacionado ao fornecimento diário de ração para as pós-larvas em processo de reversão: as pós-larvas em processo de reversão são alimentadas duas vezes por dia, enquanto a literatura sugere que as pós-larvas sejam alimentadas de cinco a seis vezes por dia.

A Estação de Piscicultura Raimundo Saraiva da Costa está implantando uma nova tecnologia com o objetivo de aumentar a taxa de sobrevivência e fecundidade.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, M. da P. R. de. **Procedimentos de masculinização de larvas de tilápia empregadas na Unidade de Piscicultura de Bebedouro, Petrolina, PB.** Petrolina: CODEVASF / Estação de Piscicultura de Bebedouro, 1999. 17 p.

DIAZ, G. **Desarrollo de la Acicultura en Cuba. Manejo de Estaciones y Pesqueiras en Águas Interiores.** Compescal: documento técnico, 1988. 69p.

DOURADO, O. F. **Piscicultura em Águas Interiores do Nordeste Brasileiro.** Fortaleza: DNOCS, 1988. 86p.

FONTENELE, O. **Método de Hipofisação de Peixes, adotado pelo DNOCS.** Fortaleza: DNOCS, 1981. 30p.

GURGEL, J. J. S. Potencialidade do cultivo da tilápia no Brasil. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Nordestina de Produção Animal, 1998. p. 345-352.

GURGEL, J. J. S.; SILVA, J. W. B. **Apostila de aula da Disciplina Aqüicultura II.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1984.

KUBTIZA, F. **Tilápia. Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial.** 2 ed. Jundiaí: DEGASPARI, 2000. 285p.

KUBITZA, F. Coletânea de Informações Aplicadas ao Cultivo do Tambaqui, do Pacu e de outros Peixes Redondos. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.14, n. 82, p.27 – 39, mar./abr. 2004.

LOPES, J. P.; FONTENELE, O. **Produção de Alevinos de Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, para peixamento de açudes e**

estocagem em viveiros, no Nordeste do Brasil. Fortaleza: MINTER/DNOCS, 1982. 22p.

LUND, V. X.; FIGUEIRA, M. L. O. A. **Criação de Tilápias.** São Paulo: Nobel, 1989. 64p.

MATOS, A. R. B. **Análise da Produção de alevinos revertidos de tilápias, *Oreochromis spp*, no Estado do Ceará.** 2003. 94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca)-Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

NOBRE, M. I. S. Sexagem e Reversão do Sexo da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Curso Teórico e Prático Sobre Aqüicultura Continental.** Fortaleza: DNOCS, 2001. 53-59p.

SOBRINHO, A. C.; MELO, F. R.; SILVA, J. W. B.; NOBRE, M. I. da S. Resultados de um experimento sobre o cultivo do tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, na densidade de estocagem de 10.000 peixes/há. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.20, n.1/2, p.25 – 31, jun./dez. 1989.

VAZZOLER, A. E. A. de M. **Biologia da Reprodução dos Peixes Teleósteos: Teoria e Prática.** Paraná, 1996.

VIEIRA, M. J. A. F. Reprodução de peixes. **Curso Teórico e Prático Sobre Aqüicultura Continental.** Fortaleza: DNOCS, 2001. 23-31p.

WOYNAROVICH, E. **Tambaqui e Pirapitinga. Propagação artificial e criação de alevinos.** 3 ed. Brasília: CODEVASF, 1988. 68p.