

## Notas Científicas

# Caracterização macroscópica das gônadas durante a reprodução induzida em cativeiro do surubim-do-paraíba

Renato Massaaki Honji<sup>(1)</sup>, Danilo Caneppele<sup>(2)</sup> e Renata Guimarães Moreira<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Rua do Matão, Travessa 14, nº 321, CEP 05508-090 São Paulo, SP. E-mail: honjijp@usp.br, renatagm@ib.usp.br <sup>(2)</sup>Companhia Energética de São Paulo, Unidade de Hidrobiologia e Aquicultura, Rodovia dos Tamoios, Km 38, CEP 12260-000 Paraibuna, SP. E-mail: danilo.caneppele@cesp.com.br

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi descrever a morfologia das gônadas do surubim-do-paraíba (F1) durante a reprodução induzida em cativeiro. Trinta fêmeas foram induzidas, tendo-se utilizado extrato hipofisário de carpa e gonadotrofina coriônica humana. Vinte e oito fêmeas responderam à indução, tendo liberado 238,80 g de ovócitos (taxa de fertilização: 24,33±8,35%). Após a extrusão dos gametas, os animais foram eutanasiados para análise morfológica das gônadas. Os testículos não apresentaram alterações morfológicas após a indução. Entre os ovários, 63,31% apresentaram má formação (desenvolvimento ímpar, não uniforme ou “afunilamento”), e o número de ovócitos liberados foi abaixo do obtido em reprodutores selvagens desta espécie.

**Termos para indexação:** *Steindachneridion parahybae*, ovários, Rio Paraíba do Sul, testículos.

## Macroscopic characterization of gonads during induced breeding in captivity of surubim-do-paraíba

**Abstract** – The objective of this work was to describe the morphology of the gonads of surubim-do-paraíba (F1) during induced breeding in captivity. Thirty females were induced to reproduction using carp pituitary extract and human chorionic gonadotropin. Twenty-eight females responded to the induction, releasing 238.80 g of oocytes (fertilization rate: 24.33±8.35%). After stripping of gametes, the animals were euthanized for the morphological analysis of the gonads. Testicles did not present morphological alteration after induction. Among ovaries, 63.31% showed malformation (uneven, not uniform development or “narrowing”), and the number of released oocytes was below the obtained in wild broodstock of this species.

**Index terms:** *Steindachneridion parahybae*, ovaries, Paraíba do Sul River, testicles.

*Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae), conhecido como surubim-do-paraíba, é uma espécie de teleosteo migradora (reofílica), endêmica da Bacia do Rio Paraíba do Sul (Garavello, 2005), que está criticamente ameaçada de extinção (Honji et al., 2009). Um dos principais fatores que tem colocado em risco espécies endêmicas desta Bacia, como o surubim-do-paraíba, é a poluição dos rios desta região, resultante do desenvolvimento industrial (Honji et al., 2009). Além desses impactos ambientais, o sucesso reprodutivo do surubim-do-paraíba fica prejudicado quando estes são impedidos de migrar em razão da presença de Pequenas Centrais de Hidrelétricas (PCH) frequentes nos rios desta bacia, ou ainda, por causa do confinamento em viveiros de cultivo.

A reprodução artificial é uma das ações imediatas para a conservação desta espécie; portanto, é importante investigar o manejo dos reprodutores do surubim-do-paraíba em cativeiro. Em 2003,

a Companhia Energética de São Paulo (Cesp) incluiu o surubim-do-paraíba em seu programa de conservação, e um dos principais objetivos deste estudo foi fornecer dados biológicos para o Programa de Repovoamento de Peixes da Bacia do Rio Paraíba do Sul (Caneppele et al., 2009). No entanto, a baixa produção de ovos obtida durante a indução artificial, se comparada com a de outros Siluriformes (Leonardo et al., 2004; Baldisserotto & Radünz Neto, 2005), sugere a necessidade de um estudo específico nos ovários durante o período de indução hormonal desta espécie. A hipótese seria que a manipulação hormonal e a manutenção em cativeiro possam estar de alguma forma prejudicando a ovulação ou a desova, como já descrito na literatura para outras espécies (Mylonas et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi descrever a morfologia das gônadas do surubim-do-paraíba (F1) durante a reprodução induzida em cativeiro.

O experimento foi conduzido na Estação de Hidrobiologia e Aquicultura da Cesp (Paraibuna, SP). Em dezembro de 2003, reprodutores selvagens de surubim-do-paraíba foram induzidos à reprodução (Caneppele et al., 2009), e seus descendentes (7.800 alevinos) foram estocados (2003–2009) em viveiros de 200 m<sup>2</sup> (10x20 m) para formação de futuros reprodutores (F1). O detalhamento do protocolo de indução hormonal do surubim-do-paraíba, de origem selvagem, foi descrito em Caneppele et al. (2009).

Em fevereiro de 2009, 30 fêmeas (F1) foram selecionadas por características externas – abdômen abaulado e fácil liberação de ovócitos quando levemente pressionado (Figura 1 A) – e induzidas à reprodução. Na primeira indução (4/2/2009), foram utilizadas 15 fêmeas e, na segunda indução (9/2/2009), mais 15 fêmeas (Tabela 1). Para a indução das fêmeas, foram utilizadas duas doses intraperitoneais (primeira dose de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> e segunda dose de 5 mg kg<sup>-1</sup>) de extrato hipofisário de carpa (EHC) (Fish Braz, Botucatu, SP), dissolvidas em solução de cloreto de sódio (solução comercial a 0,9%). Na segunda dose de EHC (intervalo de 12 horas), foi administrada uma dose de gonadotrofina coriônica humana (hCG) Pregnyl, (Organon, Inc., West Orange, New Jersey, EUA) (Harvey & Carolsfeld, 1993), com concentrações de 2 UI kg<sup>-1</sup> (primeira indução) e 1,5 UI kg<sup>-1</sup> (segunda indução). No momento em que as fêmeas receberam a segunda dose, os machos receberam uma dose única de 3 mg kg<sup>-1</sup> de EHC. Foram utilizados dois machos de origem selvagem em cada experimento de indução (Tabela 1).

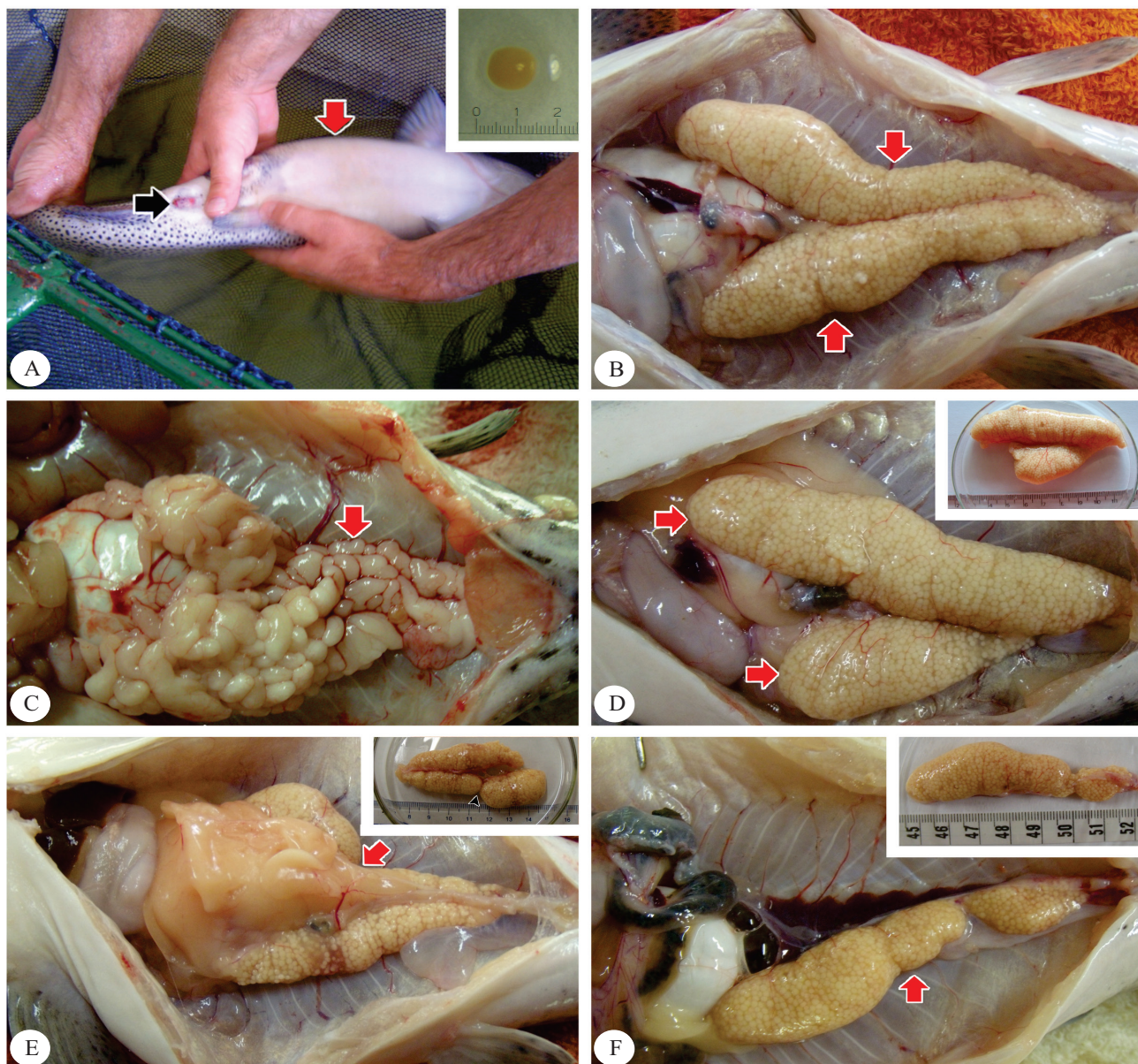
Após a ovulação, os gametas foram extrusados manualmente, coletados em recipientes de plástico e levemente homogeneizados, sendo a fertilização conduzida pelo método “seco” (Harvey & Carolsfeld, 1993). Após a fertilização, os ovos foram transferidos para incubadoras cônicas de 200 L e, depois de 6 horas, a taxa de fertilização foi calculada de acordo com a seguinte fórmula (Leonardo et al., 2004):  $F = (\text{número de ovos fertilizados} \times 100) / \text{número total de ovos}$ .

A temperatura e a concentração de oxigênio dissolvido da água foram monitoradas, e os valores observados na primeira e na segunda indução foram, respectivamente: 24,6°C e 7,74 mg L<sup>-1</sup> e 23°C e 8,70 mg L<sup>-1</sup> (primeira dose); 23,9°C e 8,14 mg L<sup>-1</sup> e 22,6°C e 7,28 mg L<sup>-1</sup> (segunda dose); 25°C e 8,20 mg L<sup>-1</sup> e 23,4°C e 7,64 mg L<sup>-1</sup> (extrusão dos gametas).

Para a caracterização macroscópica das gônadas, foram eutanasiados três machos e cinco fêmeas antes da indução, e todos os animais foram induzidos (n=30) logo após a extrusão. Os animais foram anestesiados (1,0 g de benzocaína, diluído em 100 mL de etanol 92,6°GL, adicionado a 20 L de água) (Summerfelt & Smith, 1990) e eutanasiados para observação e descrição macroscópica das gônadas, a fresco (sem uso de fixadores). Para este procedimento, foi utilizada câmera fotográfica Nikon Coolpix 8.1. Todos os procedimentos adotados foram realizados de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais em Experimentação, do Instituto de Biociências, da Universidade de São Paulo (Protocolo 072/2008).

A extrusão ocorreu em torno de 8 horas após a segunda dose hormonal, com aproximadamente 200 horas-grau (HG), 25°C. Este valor de HG foi similar ao observado para outros Siluriformes (Baldisserotto & Radünz Neto, 2005; Ludwig et al., 2005). Das 30 fêmeas induzidas, 28 responderam à indução (93,3%); os dados referentes às taxas de fertilização e à massa de ovócitos liberados na primeira e na segunda indução hormonal foram similares (Tabela 1). A quantidade de ovócitos liberados por fêmea foi baixa, se comparada à quantidade liberada pelos animais de origem selvagem, de 40 e 60 g por fêmea (Caneppele et al., 2009), e por outros Siluriformes, como *Pseudoplatystoma fasciatum* (Leonardo et al., 2004) e *Steindachneridion melanoderdatum* (Ludwig et al., 2005). A indução hormonal e o procedimento de extrusão dos gametas podem causar impactos negativos à qualidade destes, e também podem influenciar a taxa de fertilização, como sugerido para outras espécies de teleosteos (Mylonas et al., 2010).

Os ovários do surubim-do-paraíba são órgãos pares, alongados, com a extremidade anterior terminando em fundo cego, e as extremidades posteriores são unidas por um ducto que alcança o poro genital, ventralmente aos rins e à vesícula gasosa e dorsalmente ao tubo digestório. Os ovários são ligados à parede dorsal do celoma pelo mesentério (Figura 1 B) e apresentaram ovócitos amarelados, não adesivos e com diâmetro médio de 1,10±0,10 mm (Figura 1 A). Estas características anatômicas correspondem às relatadas para outros Siluriformes (Leonardo et al., 2004; Baldisserotto & Radünz Neto, 2005). Os testículos (Figura 1 C) também são órgãos pares, com sêmen branco, localizados na mesma posição dos ovários,



**Figura 1.** A, características externas para seleção de reprodutores: papila genital avermelhada (seta negra), abdômen abaulado (seta vermelha) e ovócito extrusado (detalhe superior); B, ovários em maturação avançada (seta vermelha), com desenvolvimento uniforme dos lobos; C, testículos “françados” em maturação avançada (seta vermelha); D–F, ovários em maturação avançada (seta vermelha): D, desenvolvimento diferenciado no comprimento entre os lobos (detalhe superior); E, obstrução em um dos lobos (detalhe superior); F, desenvolvimento de apenas um lobo (detalhe superior).

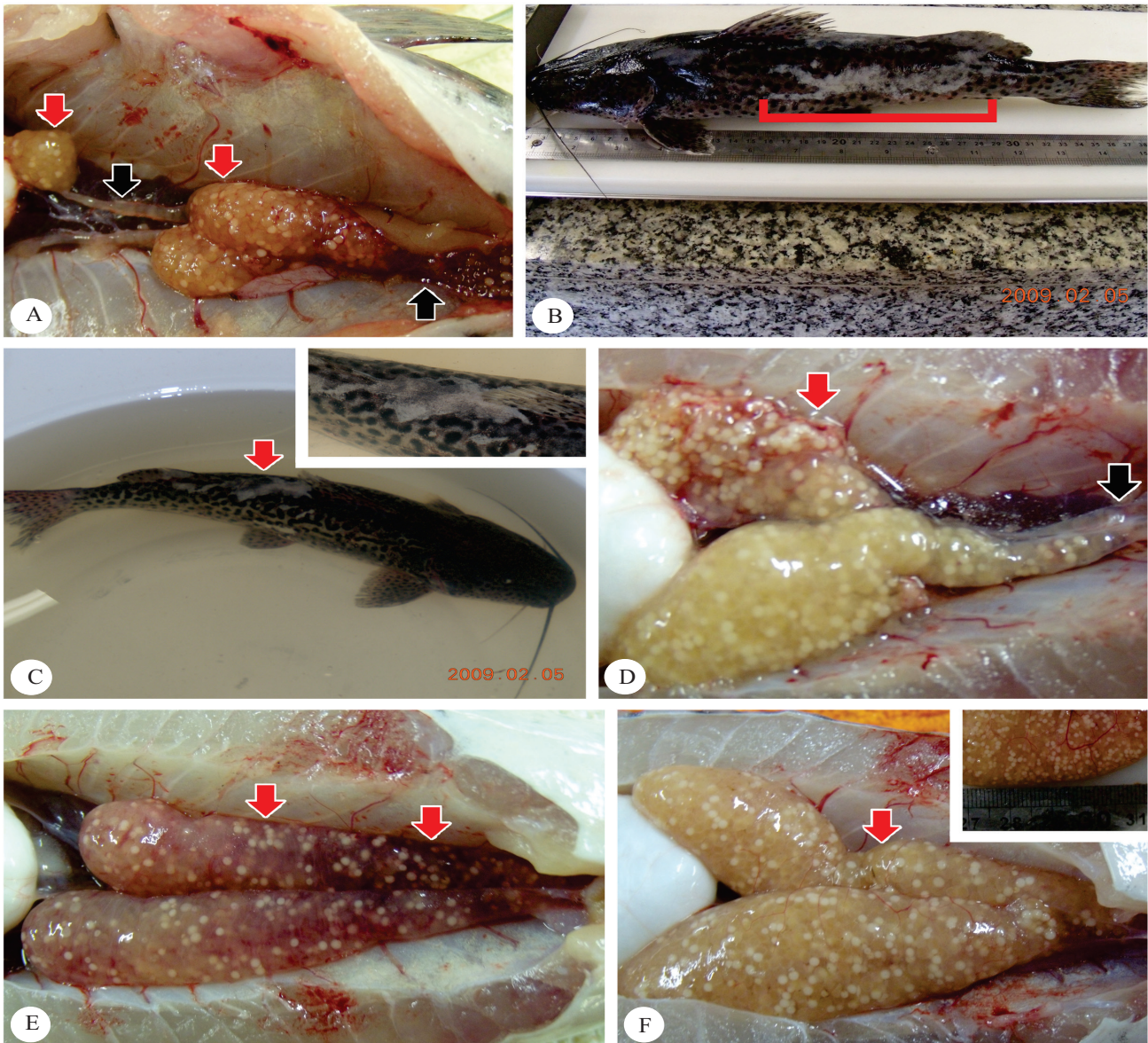
**Tabela 1.** Dados reprodutivos (médias±erro padrão da média) do surubim-do-paraíba (*Steindachneridion parahybae*), geração F1, em experimento conduzido na Estação de Hidrobiologia e Aquicultura da Companhia Energética de São Paulo (Cesp), Paraíba, SP.

Dados reprodutivos	Primeira indução hormonal (4/2/2009)	Segunda indução hormonal (9/2/2009)
Fêmeas (massa corpórea, g)	562,33±11,98	548,93±23,28
Machos (massa corpórea, g)	1.650,00±150,00	1.450,00±350,00
Ovócitos liberados (g)	156,80	82,00
Taxa de fertilização (%)	21,5±10,0	27,2±18,7

com “franjas” de diferentes tamanhos e formas, como em outros Siluriformes (Batlouni et al., 2006). Os testículos não apresentaram alterações morfológicas após a indução.

Ao final do processo reprodutivo, 63,31% das fêmeas de surubim-do-paraíba apresentaram algum tipo de alteração morfológica nos ovários. Entre estas, 56,65% responderam positivamente à indução e tiveram as seguintes alterações morfológicas: 26,66% das fêmeas não apresentaram ovários com desenvolvimento

uniforme dos lobos (Figura 1 D) não tendo-se observado nenhum padrão com relação ao lobo menos desenvolvido (direito ou esquerdo); 23,33% dos animais apresentaram um dos lobos do ovário com má formação ao longo do comprimento (“afunilamento” ovariano, Figura 1 E); e 6,66% das fêmeas apresentaram o desenvolvimento de apenas um dos lobos do ovário (Figura 1 F). Já 6,66% das fêmeas não responderam positivamente à indução e apresentaram ovários irregulares e pequenos (Figura 2 A), se comparados aos de outras fêmeas que



**Figura 2.** A e E, má formação ovariana (seta vermelha) e afunilamento dos lobos (seta preta) das fêmeas que não responderam à indução; B–C, injúrias decorrentes do comportamento agressivo das fêmeas e áreas afetadas: região lateral (área vermelha) e dorsal (seta vermelha e detalhe superior); D, ovários (seta vermelha) após a indução e a extrusão dos gametas, com zonas hemorrágicas; F, ovários (seta vermelha) com ovócitos atrésicos (detalhe superior).

apresentaram desenvolvimento regular (Figura 1 B). Somadas a estas alterações, a extrusão dos gametas foi acompanhada de outros danos, como a presença de zonas hemorrágicas (Figura 2 D), além de muitos ovócitos atrésicos (Figura 2 F). A presença de ovócitos atrésicos após a indução com hCG + EHC também foi observada em *P. fasciatum* (Leonardo et al., 2004), o que indica a necessidade de estudos adicionais com diferentes doses e hormônios na reprodução artificial de Siluriformes.

Além das alterações morfológicas descritas nos ovários, as fêmeas que foram mantidas em um mesmo tanque apresentaram lesões na pele (Figuras 2 B e 2 C) causadas pelo comportamento agressivo. Como apenas uma fêmea apresentou ferimentos, uma foi considerada dominante e a outra subordinada. Este comportamento agressivo, durante a indução hormonal à reprodução do surubim-do-paraíba, já havia sido observado por Caneppele et al. (2009) quando um casal de reprodutores foi mantido no mesmo tanque. Portanto, não é recomendada a manutenção de dois animais (casal ou fêmeas) durante a indução hormonal desta espécie.

Os resultados mostram que fêmeas do surubim-do-paraíba, na primeira geração, liberam baixo número de ovócitos quando submetidas à reprodução induzida, em comparação às fêmeas selvagens, e que seus ovários apresentam alta percentagem de alterações morfológicas. Estes dados contribuem com informações do comportamento reprodutivo e da morfologia ovariana desta espécie em cativeiro, em resposta às técnicas de manipulação hormonal.

### Agradecimentos

À Companhia Energética de São Paulo (Cesp), pelo apoio técnico; e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo apoio financeiro.

### Referências

- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia* sp.). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. p.303-325.
- BATLOUNI, S.R.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M.I. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium. An approach addressed to aquaculture. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.116-132, 2006. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2005.11.012.
- CANEPELE, D.; HONJI, R.M.; HILSDORF, A.W.; MOREIRA, R.G. Induced spawning of the endangered Neotropical species *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v.7, p.759-762, 2009. DOI: 10.1590/S1679-62252009000400026.
- GARAVELLO, J.C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v.3, p.607-623, 2005. DOI: 10.1590/S1679-62252005000400018.
- HARVEY, B.J.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: International Development Research Centre, 1993. 144p.
- HONJI, R.M.; CANEPELE, D.; HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, R.G. Threatened fishes of the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae). **Environmental Biology of Fishes**, v.85, p.207-208, 2009. DOI: 10.1007/s10641-009-9480-9.
- LEONARDO, A.F.G.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M.I.; BATLOUNI, S.R. Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). **Aquaculture**, v.240, p.451-461, 2004. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.030.
- LUDWIG, L.A.M.; GOMES, E.; ARTONI, R.F. Um método de reprodução induzida para o surubim *Steindachneridion melanodermatum* (Siluriformes, Pimelodidae) do Rio Iguaçu. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde de Ponta Grossa**, v.11, p.23-27, 2005.
- MYLONAS, C.C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.516-534, 2010. DOI: 10.1016/j.ygcen.2009.03.007.
- SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S. Anesthesia, surgery, and related techniques. In: SCHRECK, C.B.; MOYLE, P.B. (Ed.). **Methods for fish biology**. Maryland: American Fisheries Society, 1990. p.213-272.

Recebido em 29 de julho de 2011 e aprovado em 18 de junho de 2013