



Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Everton Rabelo Cordeiro
Inocencio Junior de Oliveira
Maria Geralda de Souza
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Editores Técnicos*

Embrapa
Brasília, DF
2018

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara,
Manaus, AM
69010-970
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo
conteúdo e edição**
Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira e Ricardo Lopes*

Revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa
(CRB 11/420)

Capa, projeto gráfico e editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

1ª edição
Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Amazônia Ocidental.

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (14. : 2017: Manaus, AM). Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental; editores, Everton Rabelo Cordeiro.. [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

PDF (224 p.).

ISBN 978-85-7035-843-1

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Cordeiro, Everton Rabelo. II. Oliveira, Inocencio Junior de. III. Souza, Maria Geralda de. IV. Moraes, Ronaldo Ribeiro de. V. Título. VI. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 630.72

Piscicultura

Avaliação de Parâmetros de Puberdade em Tambaquis (*Colossoma macro-pomum*) Mantidos em Tanques-Rede

Luan Ferreira Oliveira¹

Fernanda Loureiro de Almeida O'Sullivan²

Wallice Luiz Paxiúba Duncan³

Nayana de Souza dos Santos⁴

Resumo – O estudo foi realizado na Embrapa Amazônia Ocidental, de agosto de 2016 a julho de 2017, com 52 juvenis de tambaqui. Os 12 maiores indivíduos foram identificados com microchips, mantidos em tanques-rede, e mensalmente eram realizadas biometria e coleta de sangue. O restante foi mantido em adensamento mais elevado e utilizado para coleta de sangue (análise de hormônios) concomitantemente com seu desenvolvimento gonadal (avaliação histológica). As análises de estradiol foram realizadas por meio do método Elisa (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). O crescimento e ganho de peso dos animais em baixa densidade foram muito satisfatórios, e ocorreu a primeira maturação nos

¹Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

²Médica-veterinária, D.Sc. em Biologia Celular, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³Biólogo, D.Sc. em Ecologia e Recursos Naturais, professor da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

⁴Graduanda em Engenharia de Pesca, aluna da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

machos. As fêmeas apresentaram somente recrutamento folicular, com o início da oogênese. Os animais apresentaram altos picos de estradiol nos meses de março e abril, por coincidir com o mês da reprodução do tambaqui. Assim, foi possível observar que, mesmo em tanques-rede, o tambaqui entra em desenvolvimento gonadal atingindo a maturação sexual.

Palavras-chave: puberdade, análise plasmática, esteroides sexuais.

Puberty's Parameters Evaluation on Tambaquis (*Colossoma macropomum*) in Cages

Abstract – The study was conducted at the Embrapa Western Amazon from August 2016 to July 2017, with 52 juveniles of tambaqui. The 12 largest individuals were identified with microchips, kept in tanks and evaluated monthly for biometry and blood sampling. The remainder was kept in a higher density and were used for blood sampling (hormonal analysis) concomitant with its gonadal development (evaluation of histology). Analyzes were performed by commercial Elisa kit for estradiol. The growth and weight gain of the animals kept in low density was very satisfactory and the first maturation occurred in the males. Females presented only follicular recruitment, with the onset of oogenesis. The animals showed high peaks of E2 in the month of March and April, coinciding with the period of tambaqui reproduction. Thus, it was possible to observe that even in net tanks the tambaqui goes into gonadal development reaching sexual maturation.

Keywords: puberty, plasma analysis, sexual steroids.

Introdução

O ciclo reprodutivo dos peixes teleósteos é ativado pelo eixo hipófise-hipotálamo, que capta as variações do meio ambiente pelo sistema sensorial e outras áreas do cérebro e envia os comandos para as gônadas. A maioria dos teleósteos apresenta maturação sazonal, ou seja, eles sofrem influência do ambiente, como fotoperíodo, temperatura, variações na propriedade da água e oferta de alimento do meio.

O início da sua maturação ocorre por estímulo exclusivo do FSH (hormônio folículo-estimulante), que tem um importante papel no crescimento do oócito e desenvolvimento folicular nas fêmeas. O FSH irá estimular a síntese de aromatase, para as células de granulosa converterem a testosterona produzida em estradiol. O estradiol vai estimular a síntese hepática de vitelogenina, responsável pela vitelogênese, quando ocorre o acúmulo de vitelo nos oócitos. Na segunda fase, conhecida como maturação final, o LH (hormônio luteinizante) é a gonadotrofina mais importante. Ele irá estimular as células a produzirem o hormônio indutor de maturação, que irá se ligar aos receptores da superfície do citoplasma do oócito, promovendo a formação e ativação do fator promotor de maturação (MPF). Vários processos são, enfim, desencadeados pelo MPF, entre eles quebra da vesícula germinativa, retomada da meiose, condensação cromossômica, formação do fuso e liberação do primeiro corpúsculo polar, caracterizando a maturação final (Nagahama; Yamashita, 2008).

Nos machos, o FSH é responsável pela primeira fase da espermatogênese, ou seja, proliferação das espermatogônias e início da meiose. Ao mesmo tempo em que o FSH estimula a célula de Leydig, estimula também síntese e secreção de andrógenos (Ohta et al., 2007; García-Lopes et al., 2009), que se encontra entre os túbulos seminíferos no testículo do peixe, produzindo a testosterona. Nesse início da maturação, a testosterona é o

principal hormônio produzido nos testículos dos peixes (Almeida et al., 2009). Chegando próximo à maturação final, com a espermiogênese, que é a liberação dos espermatozoides pelo lúmen dos túbulos seminíferos, é possível encontrar, nessa etapa final, o andrógeno 11-cetotestosterona, que apresenta altos picos plasmáticos e tem mais potência na ativação de seus receptores.

Para estudos da biologia reprodutiva de peixes e consequente desenvolvimento de protocolos e técnicas adequadas para cada espécie, faz-se necessário caracterizar os eventos endócrinos e morfológicos da fisiologia reprodutiva. A partir desses dados, os protocolos de reprodução induzida podem ser aperfeiçoados, aumentando, assim, a rentabilidade da atividade aquícola nacional.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), no município de Manaus, AM, Brasil, entre agosto de 2016 e julho de 2017. Foram utilizados 52 tambaquis juvenis de aproximadamente 20 cm estocados em tanque-rede e alimentados com ração 32% PB para acelerar o crescimento e maturação. Após 14 dias de aclimatação, os 12 maiores peixes em peso e tamanho ($176,39 \text{ g} \pm 22 \text{ g}$ e $21,0 \text{ cm} \pm 0,9 \text{ cm}$, respectivamente) foram identificados por meio de instalação de microchips e alocados em um único tanque-rede. Os demais foram distribuídos aleatoriamente em dois tanques-rede na densidade inicial de 20 peixes/tanque.

Nos 12 peixes chipados foram realizadas biometrias mensais e coletas de sangue para posterior análise do plasma sanguíneo. Esses animais foram utilizados para estimativa individual contínua dos esteroides sexuais. Para isso, foram sedados com eugenol na diluição de 65 mg/L de acordo com Roubach et al. (2005), pesados, medidos, e foi realizada coleta de sangue da veia caudal

com seringas previamente heparinizadas. Imediatamente o plasma foi separado por meio de centrifugação e armazenado a -80°C para posteriores análises dos hormônios sexuais.

Os peixes não identificados foram aleatoriamente coletados mensalmente, a partir de março, na quantidade de oito peixes/mês para biometria. Em seguida, foram sacrificados para retirada das gônadas, com posterior análise histológica para correlação com os níveis de esteroides. Em fevereiro foram realizados os primeiros testes para estradiol (E2) do plasma dos peixes identificados. O hormônio foi avaliado por meio do método Elisa. O teste é baseado no princípio de competição pela ligação antígeno-anticorpo. Desta forma, a intensidade da cor desenvolvida é inversamente proporcional à quantidade de hormônio na amostra. As concentrações de hormônios nas amostras são determinadas diretamente usando a curva padrão. As gônadas foram fixadas em glutaraldeído (4%) e emblocadas em resina metacrilato. Algumas seções ($5\mu\text{m}$) foram coradas com hematoxilina de Carazzi com Eosina e outras com o azul de toluidina para melhor visualização das estruturas morfológicas.

Resultados

Na primeira coleta de gônadas, em março, os machos apresentavam testículos em maturação, contendo pequenos cistos de espermatogônias, espermatócitos e espermátides. Esse ciclo representou a primeira maturação do animal em sua fase inicial da puberdade.

Todas as fêmeas estavam imaturas em março. Mas foi possível observar nelas abundante tecido conjuntivo, oócitos primários e ninhos de oogônias. Ou seja, as fêmeas apresentaram desenvolvimento ovariano primário, permanecendo imaturas durante todo o estudo.

Os níveis de estradiol foram muito semelhantes em machos e fêmeas imaturos (Figura 1), variando de 253,5 a 268,2 pg/mL. No início da meiose, nas fêmeas, o valor plasmático aumentou, chegando a 280 pg/mL. Já os machos em maturação apresentaram valores mais baixos, com média de 253 pg/mL.

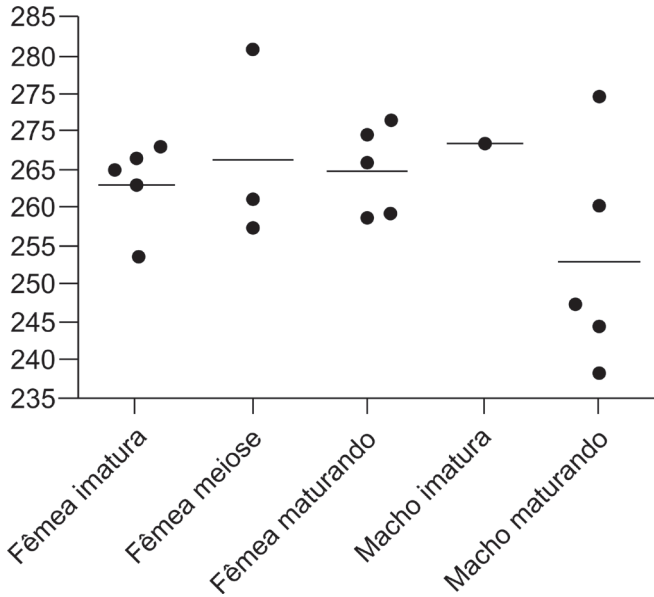


Figura 1. Níveis plasmáticos de estradiol em machos e fêmeas de juvenis de tambaqui mantidos em tanques-rede na densidade de 20/m³ e arraçoados 3x/dia.

Discussão

Como o cultivo em tanques-rede limita muito o desenvolvimento corpóreo do tambaqui e conseqüentemente seu crescimento e ganho de peso, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar os parâmetros de puberdade em tambaquis juvenis mantidos sob esse regime de criação. Fato surpreendente foi os machos pré-púberes apresentarem o ciclo espermatogênico rápido e precoce (30 cm comprimento total, CT; 500 g peso total, PT), conforme já observado por Almeida et al. (2016) em tambaquis cultivados em tanques escavados. Ou seja, não houve variação na incidência da

puberdade em si, em se considerando que a quantificação não foi realizada. Ishiba et al. (2009) dizem que, nessa fase de engorda, já é possível visualizar estruturas de maturação, por meio do desenvolvimento de cistos de células germinativas nos machos. Essa característica foi observada nos machos do presente estudo. Entretanto, não houve um sincronismo de sazonalidade mensal nos peixes, notando assim uma falta de sincronismo em seu primeiro (púbere) ciclo espermato gênico.

As fêmeas apresentaram desenvolvimento ovariano primário no mesmo peso corporal e tamanho que fêmeas mantidas em tanques escavados, permanecendo imaturas, com o ovário em repouso até o tamanho de 29 cm de CT, confirmando que sua maturação é mais tardia que a dos machos. Só fêmeas a partir de 30 cm de CT apresentaram oócitos em meiose e desenvolvimento folicular primário.

Em geral, os níveis de estradiol (E2) dos peixes mostraram que machos e fêmeas de tambaqui apresentam os mesmos níveis desse esteroide quando imaturos. Muito provavelmente esses valores (entre 253 pg/ml e 258 pg/ml) representam a concentração basal de estradiol na espécie. Houve pequena elevação da concentração de estradiol nas fêmeas que iniciavam o desenvolvimento folicular primário, a partir de meiose, que é bem tardia em tambaqui. Já nos machos, com o desenvolvimento dos cistos espermato gênicos, a concentração de estradiol diminuiu. O estradiol em machos é importante durante a fase de proliferação espermato gonial, ou seja, ao início do processo de espermatogênese. De acordo com Vieira et al. (1999), esses valores coincidem com o período reprodutivo do tambaqui em ambiente natural, que se reproduzem durante a enchente dos rios.

Conclusões

O tambaqui cultivado em tanque-rede em baixa densidade apresenta praticamente o mesmo desenvolvimento gonadal púbere que tambaquis criados em tanques escavados intensivamente. Os machos, em ambos os sistemas, são mais precoces e assíncronicos que as fêmeas. O estradiol tem níveis basais semelhantes em machos e fêmeas imaturos e, à medida que as fêmeas iniciam o processo de recrutamento folicular e desenvolvimento primário, ocorre uma elevação na concentração. Já os machos, ao entrarem em meiose, não tem estradiol elevado. Apesar da importância dos presentes resultados, que vêm somar para a caracterização hormonal do tambaqui em fase de puberdade, mais estudos são necessários para melhor caracterização de todos os hormônios reprodutivos da espécie.

Referências

- ALMEIDA, F. L.; LOPES, J. S.; CRESCENCIO, R.; IZEL, A. C. U.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): possible influence of male sexual maturation on harvest weight. **Aquaculture**, v. 452, p. 224-232, 2016.
- ALMEIDA, F. L.; TARANGER, G. L.; NORBERG, B.; KARLSEN, Ø.; BOGERD, J.; SCHULZ, R. Photoperiod-modulated testis maturation in Atlantic cod (*Gadus morhua*, L.). **Biology of Reproduction**, v. 80, n. 4, p. 631-640, Nov. 2009.
- GARCÍA-LOPEZ, A.; BOGERD, J.; GRANNEMAN, J. C.; VAN DIJK, W.; TRANT, J. M.; TARANGER, G. L.; SCHULZ, R. W. Leydig cells express FSH receptors in African catfish. **Endocrinology**, v. 150, p. 357-365, 2009.

ISHIBA, R.; QUAGIO-GRASSIOTO, I.; FRANÇA, G. F. Aspectos estruturais do desenvolvimento gonadal e relação gonadossomática de machos e fêmeas ao longo do ciclo reprodutivo anual em *Gymnotus* cf. carapo: (TELEOSTEI: GYMNOTIFORMES, GYMNOTIDAE). São José do Rio Preto, 2009. Trabalho apresentado no Congresso de Iniciação Científica, São José do Rio Preto.

NAGAHAMA, Y.; YAMASHITA, M. Regulation of oocyte maturation in fish. **Development, Growth & Differentiation**, v. 50, Supl.1, p. S195-219, 2008.

OHTA, T.; MIYAKE, H.; MIURA, C.; KAMEI, H.; AIDA, K.; MIURA, T. Follicle-stimulating hormone induces spermatogenesis mediated by androgen production in Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Biology of Reproduction**, v. 77, n. 6, p. 970-977, 2007.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 11, p. 1056-1061, 2005.

VIEIRA, F. E.; ISAAC, J. V.; FABRÉ, N. N. Biologia reprodutiva do tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, (Teleostei, Serrasalminidae), no Baixo Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 29, n. 4, p. 625-638, 1999.