

Documentos

ISSN 1517-3135
Dezembro, 2012

100

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



Embrapa

ISSN 1517-3135

Dezembro, 2012

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

Documentos 100

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental

*Ronaldo Ribeiro Morais
Cheila de Lima Bojjink
Kátia Emidio da Silva
Regina Caetano Quisen*

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *André Luiz Atroch, Edsandra Campos Chagas, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Lúcio Rogerio Bastos Cavalcanti*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Morais, Ronaldo Ribeiro et al.

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / (editado por) Regina Caetano Quisen et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012.

320 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 100).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Desenvolvimento Gonadal de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Joyce da Silva Lopes Souza
Fernanda Loureiro de Almeida

Resumo

Foram coletados e avaliados 96 tambaquis (*Colossoma macropomum*) durante 9 meses e comparado o desempenho zootécnico entre machos e fêmeas em cativeiro. A análise da puberdade dos animais foi feita através de estudos histológicos de suas gônadas. Todo o estudo foi realizado em animais oriundos da mesma desova (mesma idade e mesmo material genético parental) e mantidos em condições normais de criação comercial, sem qualquer tratamento adicional. Os resultados permitiram confirmar que o macho do tambaqui entra em puberdade precocemente em relação à fêmea e completa a maturação testicular em tempo mais curto que a maturação ovariana; e que a fêmea, a partir do 7º mês de idade, é maior e mais pesada que o macho.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*, puberdade, gônada.

Introdução

No Amazonas, maior bacia hidrográfica do mundo, o constante aumento da pressão da pesca extrativista sobre os estoques de populações naturais de peixe, associado ao aumento da demanda pelo pescado, vem contribuindo para a propagação da piscicultura no estado. Com o aumento das criações em cativeiro, agrava-se a necessidade de se desenvolverem novas tecnologias de produção, buscando implementar o rendimento produtivo. Neste cenário, destaca-se o tambaqui (*C. macropomum*), que representa hoje o melhor candidato nativo para a piscicultura intensiva na Amazônia e em outras áreas do Brasil. Portanto, é fundamental o conhecimento dos processos biológicos específicos dessa espécie para orientar as técnicas de biotecnologia da reprodução.

Espermatogênese é o processo que envolve uma série de sincronizadas divisões e diferenciações celulares com o objetivo de produzir espermatozoides haploides a partir de espermatogônias diploides nos testículos dos vertebrados. São três as fases da espermatogênese: proliferativa (multiplicação das espermatogônias originando ao final os espermatócitos), meiótica (os espermatócitos passam pelas duas divisões meióticas originando as espermátides) e diferenciação (as espermátides se diferenciam em espermatozoides através de transformações celulares).

Nas fêmeas, a oogênese é o processo no qual células germinativas iniciais (oogônias) se desenvolvem para dar origem ao oócito pronto para ser fertilizado. Esse processo pode ser dividido nas seguintes etapas: a) transformação da oogônia em oócitos (início da meiose); b) crescimento do oócito enquanto a meiose está parada; c) reinício da meiose (maturação); e, finalmente, d) expulsão do oócito de seu folículo (ovulação). No início de cada período reprodutivo, uma fração das oogônias presentes no ovário passa por uma série de divisões mitóticas até entrar em meiose (PATIÑO e SULLIVAN, 2002) e então se desenvolve até oócito maduro. Na etapa de crescimento, os oócitos

adquirem grande quantidade de vitelo que servirá de alimento para o embrião e para os primeiros momentos de vida da larva. Esse processo é caracterizado por duas fases: previtelogênese e vitelogênese.

No caso mais específico dos teleósteos de valor comercial, a reutilização dos reprodutores e matrizes ou mesmo a manipulação da puberdade (no caso, por exemplo, de animais que entram em maturação antes do tamanho de abate) só se tornam possíveis quando existe um conhecimento prévio de tais eventos (espermatogênese e oogênese). A comparação do crescimento e ganho de peso entre machos e fêmeas, eventos geralmente relacionados à puberdade dos animais, também gera dados de suma importância para o desenvolvimento de novas tecnologias na criação de espécies comerciais, como o tambaqui.

O presente trabalho detalha os dois processos, espermatogênico e oogênico, de tambaquis cultivados, através de estudos histológicos, pois são ferramentas importantes para a classificação dos estágios do desenvolvimento gonadal e, dessa forma, determinar o período reprodutivo da espécie no ambiente de cativeiro.

Material e Métodos

O estudo teve duração de nove meses (novembro/2011 a julho/2012) e foram coletados ao total 96 animais oriundos do mesmo lote de larvas, com média de 12/mês. Durante todo o período, os animais foram mantidos no mesmo tanque escavado, na Fazenda Sagrada Família, no Km 65, AM-10, Manaus/Rio Preto da Eva, recebendo, portanto, o mesmo tratamento e regime alimentar (de propriedade comercial). Ao início das coletas, os juvenis (aproximadamente 2 meses de idade) apresentavam peso inicial de 280 g em média.

Todos os peixes coletados foram primeiramente anestesiados com benzocaína a 10% (1 mL/1 litro de água) e em seguida medidos e pesados. Uma incisão ventral ampla foi feita em cada exemplar para

coletar o par de gônadas que estava situado na cavidade abdominal, ventralmente ao rim e ventralmente à bexiga natatória, e dorsalmente ao tubo digestivo.

As gônadas foram retiradas e pesadas para o cálculo do índice gônado somático (IGS): $IGS = \text{Peso da gônada} \times 100 / \text{Peso corporal}$. Para estudo histológico, as amostras das gônadas coletadas foram fixadas em solução Bouin, por 24 horas, e depois desidratadas em concentrações crescentes de álcool e xilol para posterior inclusão em parafina.

Com o material biológico já incluído, os blocos foram cortados em micrótomo com espessura de $5 \mu\text{m}$; e os fragmentos, montados em lâminas histológicas para a bateria de coloração com hematoxilina – eosina. As imagens microscópicas foram registradas com programa de análise de imagem. Para comparação de peso e tamanho entre machos e fêmeas o Teste T foi aplicado com nível de significância de 0,01.

Resultados e Discussão

No período de novembro de 2011 a janeiro de 2012, 24 animais foram coletados com média de peso $455,4 \text{ g} \pm 207$ e comprimento total de 27 cm. Os machos ($n = 18$) apresentavam testículos imaturos, caracterizados pela presença de espermatogônias do tipo A, em mitose ou não, envelopadas pelas células de Sertoli, o que caracteriza a organização cística da espermatogênese dos teleósteos (Figura 1A). Em alguns animais havia a presença de raros espermatozoides livres entre as células somáticas (tecido conjuntivo), o que é descrito em outras espécies de teleósteos como um primeiro ensaio espermatogênico (Figura 1B). As fêmeas também estavam em repouso, apresentando uma proporção muito grande de tecido conjuntivo em seus ovários. Portanto, todos os animais estavam imaturos até esse período, e essa fase também é conhecida por repouso. Em algumas fêmeas foi possível observar células germinativas indiferenciadas entre abundante tecido

conjuntivo, pois desde a diferenciação a gônada sofre uma reorganização estrutural, determinando uma nova relação entre as células germinativas e somáticas (NEHRING et al., 2008).

Em fevereiro, os machos iniciaram a maturação testicular ao peso médio de 780 g, enquanto as fêmeas permaneceram imaturas, com os ovários em repouso. A espermatogênese ocorreu no interior de cistos de desenvolvimento sincrônico, a partir do envolvimento das espermatogônias pelas células de Sertoli. Nessa primeira fase, que é proliferação espermatogonial, cistos de espermatogônias B (cromatina mais condensada) preenchem os túbulos seminíferos dos animais (Figura 1C). E alguns estavam mais avançados, na fase meiótica, pela qual os espermatócitos se dividem originando as espermátides. Todas essas células da linhagem germinativa estavam presentes no parênquima testicular sempre em arranjos de cistos, envelopados por células de Sertoli, e em desenvolvimento sincrônico. Assim, foi possível observar que, aos 4 meses de vida do macho, já é possível visualizar estruturas de maturação, através das células germinativas: a) as espermatogônias, células grandes, o núcleo claro ocupa a maior parte do citoplasma e o nucléolo é único e bem evidente; podem ser observadas isoladas ou em grupos, formando cistos; b) os espermatócitos apresentam núcleo esférico e cromatina irregularmente condensada, com aspecto granular; c) espermátides, o núcleo possui cromatina mais compactada. Nessa fase inicia-se a espermiogênese com a formação preliminar do flagelo; d) espermatozoides são liberados no lúmen dos túbulos seminíferos com o término da espermiogênese (ISHIBA et al., 2009).

Nos cinco meses seguintes do estudo, foram sempre encontrados indivíduos machos ou em diferentes fases da espermatogênese, ou em repouso, ou totalmente maduros (Figura 1D), indicando que o tambaqui não tem um sincronismo típico de sazonalidade mensal de desenvolvimento testicular. Portanto, a partir do mês de fevereiro, à idade de 5 meses, todo mês havia exemplares machos em diferentes fases de desenvolvimento testicular. Seria interessante identificar qual o

limite individual que desencadeia essa puberdade, o que muito provavelmente se relaciona ao nível nutricional e de reservas energéticas de cada indivíduo. O mesmo não foi observado com as fêmeas, que até essa data permaneceram sem maiores achados histológicos em seus ovários.

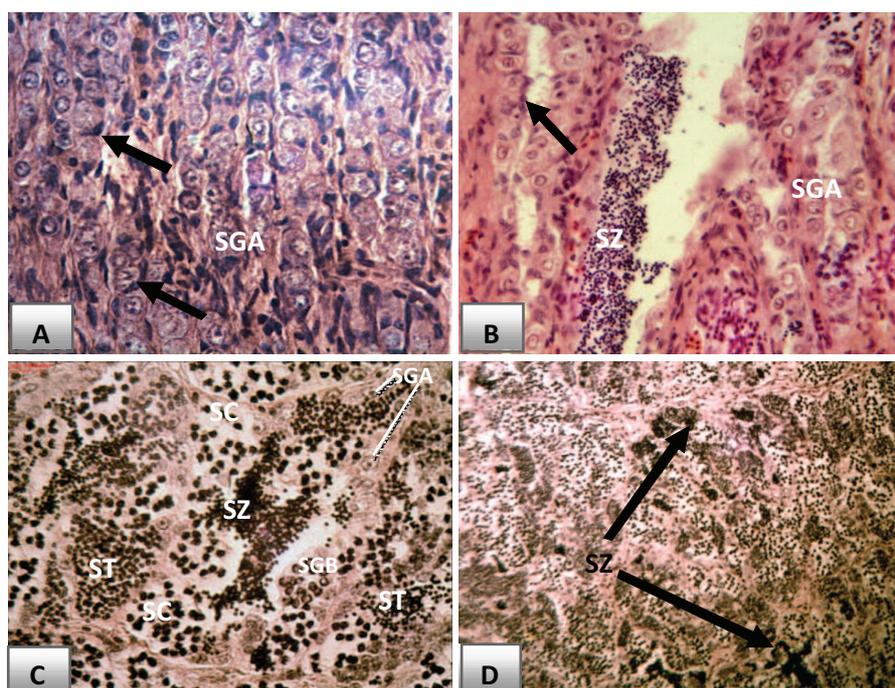


Figura 1. Cortes histológicas de testículos de tambaqui (*C. macropomum*). A) Fase imatura ou repouso – predomínio de espermatogônias A (SGA), grande evidência de células de Sertoli (setas); B) Fase imatura com a presença espermatogônias A (SGA) associadas com células de Sertoli (setas), grupos de espermatozoides (SZ) livres; C) Maturação - cistos de espermatogônias do tipo B (SGB), espermatocitos (SC), espermátides (ST) e espermatozoides (SZ). D) Maturação avançada – espermatozoides (SZ) livres ao longo dos túbulos (seta).

De abril a julho, dos 48 animais coletados 29 eram fêmeas, e todas ainda estavam imaturas, em crescimento ovariano primário (previtelogênese), caracterizado pela presença de ninhos de oogônias e

oócitos perinucleolares com ooplasma fortemente basofílico, com núcleo acidófilo e nucléolos dispostos na periferia do núcleo (Figura 2A). As células foliculares eram tipicamente achatadas e de difícil definição. Esses ovários estavam em fase previtelogênica, ao início do crescimento primário, ou seja, em fase imatura (Figura 2B). O índice gônado somático (IGS; relação entre massa da gônada sobre a massa corporal) dessas fêmeas foi de 2. No mesmo período e com a mesma idade, os tambaquis machos apresentaram IGS de 1,9, mas com alta variação dentro do grupo. Nesses quatro meses as fêmeas pesaram em média 1,9 kg e mediram 43 cm, enquanto que os machos pesaram e mediram 1,5 kg e 41 cm, respectivamente. As diferenças de peso e comprimento entre machos e fêmeas foram estatisticamente significantes, comprovando que a fêmea do tambaqui, provavelmente devido a ser mais tardia em maturação sexual, é maior e mais pesada que o macho. A precocidade sexual de machos é comum em várias outras espécies de teleósteos, e por isso a tecnologia de populações monossexo tem sido amplamente usada nas espécies de valor comercial (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002).

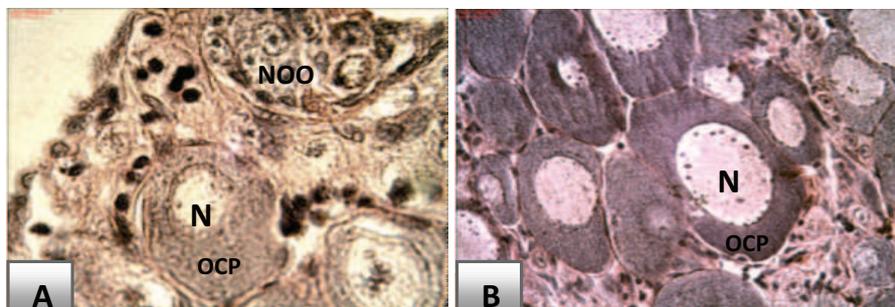


Figura 2. Cortes histológicos de ovários de tambaqui (*C. macropomum*) em estágio imaturo de desenvolvimento. A) Presença de ninhos de oogônias (NOO) e oócito perinucleolar e fase inicial de desenvolvimento (OCP); B) Presença de oócitos mais desenvolvidos (OCP).

Estudos desenvolvidos no ambiente natural indicam que o tambaqui possui desova anual e total, ocorrendo em um período determinado do ano, na época de enchente dos rios (VIEIRA et al., 1999). Contudo

observou-se que o tambaqui de cativeiro tem sua reprodução bem diferenciada, pelo menos nos sete meses em que certo desenvolvimento testicular foi acompanhado, não houve sincronismo. Comparando tambaquis machos e fêmeas criados em cativeiro, podemos identificar a precocidade sexual do macho em relação à fêmea, mesma situação observada na espécie de jundiá (*Rhamdia quelen*) de cativeiro, cujos machos apresentaram atividade reprodutiva precoce quando comparados às fêmeas (GHIRALDELLI et al., 2007). Entretanto, em geral, os dados obtidos se assemelham a espermatogênese e oogênese da maioria das espécies tropicais de peixes.

Conclusões

No presente trabalho foi possível observar que houve maior ocorrência de machos comparados com as fêmeas em um único lote de tambaqui, e o desenvolvimento gonadal foi registrado com notável diferença do início de maturação entre machos e fêmeas. Em machos de apenas 4 meses de idade já foi possível observar o desenvolvimento testicular que culmina com a produção e liberação de espermatozoides livres, enquanto que as fêmeas apenas começaram a previtelogênese após os 7 meses de idade, ambos recebendo o mesmo tratamento e dieta. Talvez devido a essa diferença da incidência de puberdade, as fêmeas apresentaram peso e tamanho superiores aos machos de 7 a 10 meses de idade. Mais estudos envolvendo análises econômicas dessa superioridade da fêmea poderiam contribuir para indicar novos rumos na criação do tambaqui.

Agradecimentos

Reconhecemos a importância do apoio técnico da equipe de piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental durante as coletas e o processamento do material no laboratório, e do suporte financeiro da Fapeam, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências

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

GHIRALDELLI, L.; MACHADO, C.; FRANCALOSSO, D. M.; ZANIBONI FILHO, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá (*Rhamdia quelen*) (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 349-356. 2007.

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). Trabalho apresentado no 21. Congresso de Iniciação Científica, 2009, São José do Rio Preto.

NEHRING, P.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; MAZZONI, T. S. Análise estrutural do epitélio germinativo masculino durante a diferenciação gonadal e ciclo reprodutivo em (*Cypriniformes*) (Teleostei). 2008. p. 07298- 07301. Disponível em:
<http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_36823108860.pdf> . Acesso em: 01 fev. 2012.

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

VIEIRA, E. F.; ISAAC, V. J.; FABRÉ, N. N. Biologia reprodutiva do tambaqui (*Colossoma macropomum*), Cuvier, 1818 (Teleostei, serrasalmidae), no baixo Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 29, n. 4, p. 625-638, 1999.