



**TIMA ABDUL REMANE TUZINE**

**SINCRONIZAÇÃO E INDUÇÃO HORMONAL NA  
REPRODUÇÃO DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**LAVRAS-MG**

**2018**

**TIMA ABDUL REMANE TUZINE**

# **SINCRONIZAÇÃO E INDUÇÃO HORMONAL NA REPRODUÇÃO DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Orientador

David Luis Solis Murgas

Coorientador

Prof. Dra. Leila de Genova Gaya

Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Tuzine, Tima Abdul Remane.

Sincronização e indução hormonal na reprodução de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Tima Abdul Remane Tuzine. - 2018.  
47 p. : il.

Orientador(a): Rilke Tadeu Fonseca de Freitas.

Coorientador(a): David Luis Solis Murgas, Leila de Genova Gaia.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Reprodução. 2. Gonadotrofina Corionica Humana. 3. Desempenho reprodutivo. I. de Freitas, Rilke Tadeu Fonseca. II. Murgas, David Luis Solis. III. Gaia, Leila de Genova. IV. Título.

TIMA ABDUL REMANE TUZINE

**SINCRONIZAÇÃO E INDUÇÃO HORMONAL NA  
REPRODUÇÃO DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

***HORMONAL INDUCTION AND SYNCHRONIZATION IN  
THE REPRODUCTION OF NILE TILAPIA (*Oreochromis  
niloticus*)***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 03 de agosto de 2018

Prof. Dra. Leila de Genova Gaya UFSJ

Dra. Daniella Aparecida de Jesus Paula UFLA

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Orientador

**LAVRAS-MG**

**2018**

Aos meus pais, Lília e Abdul, ao meu esposo Mario, e meus filhos Cleyber e Delfio  
pelo apoio, amor e incentivos nesta caminhada.

À Deus, que sem ele não conseguiria dar um passo sequer,

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), e ao Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao Professor Orientador Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pela orientação e confiança.

Ao Mário Tuzine (meu esposo) pela estatística, pela paciência em me ajudar e pela disposição sempre em me ouvir e criticar em prol da minha melhoria.

À professora co-orientadora Leila de Genova Gaia pela dedicação, paciência e boa vontade em me ajudar na escrita durante o curso todo.

Ao professor co-orientador Luis David Solis Murgas pela dedicação, paciência e boa vontade em ajudar sempre que precisei.

À pós-doutoranda Viviane de Oliveira Felizardo pela dedicação, paciência e boa vontade em me ensinar a fazer as análises de laboratório, na escrita e correção da dissertação.

A doutora Daniella Aparecida de Jesus pela disponibilidade em ajudar nas correções da dissertação.

Ao Doutor Rafael Neto pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

Ao funcionário do Setor de Piscicultura Eleci Pereira, pela disposição em sempre me auxiliar em tudo que precisei e ao Setor de Piscicultura, agradeço por tudo que vivi nestes últimos dois anos.

Aos colegas do Setor de Piscicultura em especial a Acса, Dani, Bianca, Cicero, Felipe, Ester, Pedro, Vitoria, Renato, Diana, Grazi, e Daniela, pela amizade e companheirismo durante o curso.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>v</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Características da tilápia do Nilo .....</b>	<b>3</b>
2.2 Aquicultura e produção de tilápia no Brasil .....	4
2.3 Melhoramento genético de tilápias.....	5
2.4 Características reprodutivas da tilápia.....	7
2.4.1 Determinação dos diferentes estádios do ciclo reprodutivo .....	8
2.5 Sincronização reprodutiva de tilapia .....	9
<b>3. Considerações gerais .....</b>	<b>11</b>
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>12</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO .....</b>	<b>16</b>
Artigo 1-Sincronização e Indução hormonal na reprodução de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	16
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
2.1 Procedimentos Gerais.....	20
2.2 Descrição dos métodos experimentais.....	22

2.2.1 Extrusão dos gametas .....	23
2.2.2 Avaliação do ovócito.....	24
2.2.3 Avaliação do sêmen.....	24
2.3. Análise estatística .....	25
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
<b>4. DISCUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>39</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Porcentagem (%) de fêmeas tilápias que apresentaram facilidade ou dificuldade de extrusão quando mantidas em diferentes condições e dias .....	26
<b>Tabela 2.</b> Média e desvio padrão das variáveis avaliadas em fêmeas aos 7, 14 e 21 dias de experimento.....	30
<b>Tabela 3.</b> Média e desvio padrão das variáveis avaliadas em machos aos 7, 14 e 21 dias de experimento.....	34

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Imagem representativa da espécie tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	3
Figura 2. A esquerda o total de 9 tanques, e a direita um tanque com divisão do vidro e tela por baixo para disponibilizar o contacto visual e químico entre os indivíduos.....	19
Figura 3. Esquema representativo das distribuições dos tratamentos. Em cada tanque metade dos animais foi induzida com o hormônio hCG e a outra metade induzida com soro fisiológico. 36M: 36 machos. 24F: 24 fêmeas. 12M: 12 machos. 36F: 36 fêmeas.....	20
Figura 2.1. Peso médio (g) dos ovócitos de tilápias submetidas a diferentes distribuições.....	26
Figura 2.2. Diâmetro maior (mm) dos ovócitos de tilápias submetidas a diferentes ambientes.....	27
Figura 2.3. Diâmetro menor (mm) dos ovócitos de tilápias submetidas a diferentes distribuições.....	27
Figura 2.4. Os dias interferiram no aumento do volume do sêmen em machos de tilápia em relação a indução, e ambiente.....	30
Figura 2.5. Concentração do sêmen deu diferenças significativas no ambiente, em machos de tilápia separados das fêmeas.....	31
Figura 2.6. Duração da motilidade (min) no sêmen de tilápia submetidos à diferentes dias e distribuições.....	32

## PRIMEIRA PARTE

### RESUMO GERAL

Estudos relacionados a sincronização reprodutiva vem sendo desenvolvidos, entretanto, ainda não existem na literatura protocolos estabelecidos em tilápias sob as circunstâncias de indução hormonal e diferentes distribuições e dias. Objetivou-se avaliar a possibilidade de sincronização sexual de reprodutores de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob diferentes distribuições e dias. Este estudo foi realizado no setor de piscicultura da Universidade Federal de Lavras, por um período de 21 dias experimentais que teve início final do mês de Março e início do mês de Abril. Foi conduzido num delineamento em blocos casualizados (DBC), num esquema fatorial 2×2×3, (sendo macho e fêmea, com e sem indução hormonal, e três tempos 7, 14 e 21 dias). Foram utilizados 324 peixes, sendo 180 fêmeas e 144 machos, previamente microchipados com  $250 \pm 12,25$ g de peso corporal. Os animais foram distribuídos em 9 tanques de alvenaria com abastecimento de água com fluxo contínuo. A distribuição dos animais nos tanques foi: 3 tanques com 36 machos, 3 tanques com 36 fêmeas e outros 3 tanques contendo 12 machos e 24 fêmeas, separados por um vidro e tela na parte de baixo. Após o período experimental, em metade dos animais (machos e fêmeas) foi aplicado o hormônio gonadotrofina coriônica humana hCG, por meio de injeção intramuscular na concentração de 5UI/g de peso vivo de peixe. Em metade dos animais que restou de cada tratamento, foi aplicada a mesma dosagem de soro fisiológico. Os animais foram avaliados aos 7, 14, e 21 dias. Passadas 667 horas-graus após a aplicação do hormônio foram realizadas extrusão e espermição mediante massagem celomática. Foram observadas fêmeas que apresentaram facilidade na liberação de gametas, e avaliadas o índice de desova, fecundidade absoluta e relativa, os diâmetros dos ovócitos e posição periférica da vesícula germinativa. Nos machos foram avaliados concentração espermática, volume seminal, motilidade, tempo de duração de motilidade espermática, e integridade espermática. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância ao nível de 5% de significância. Para as fêmeas aos 14 dias houve maior facilidade de extrusão quando separadas dos machos, com aplicação do hormônio. A distribuição influenciou no peso de desova, no diâmetro maior, e para os diâmetros menor os dias e indução apresentaram interferência. Nos machos, os dias interferiram no aumento do volume e na duração de motilidade do sêmen independente da indução e ambiente, e por fim, o ambiente interferiu significativamente na concentração do sêmen.

**Palavra-chave:** Reprodução. HCG, Desempenho reprodutivo.

## GENERAL ABSTRACT

Studies related to reproductive synchronization have been developed, however, there are no protocols established in tilapia under the circumstances of hormonal induction and different distributions and days. The objective of this study was to evaluate the possibility of sexual synchronization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different distributions and days. This study was carried out in the fishery sector of the Federal University of Lavras, for a period of 21 experimental days that began at the end of March and beginning of April. It was conducted in a randomized complete block design (DBC), in a factorial scheme  $2 \times 2 \times 3$ , (male and female, with and without hormone induction, and three times 7, 14 and 21 days). A total of 324 fish were used, 180 females and 144 males, previously microchipped with  $250 \pm 12.25$  g of body weight. The animals were distributed in 9 masonry tanks with continuous flow water supply. The distribution of the animals in the tanks was: 3 tanks with 36 males, 3 tanks with 36 females and another 3 tanks containing 12 males and 24 females, separated by a glass and screen in the bottom. After the experimental period, the human chorionic gonadotrophin hormone hCG was applied in half of the animals (males and females) by intramuscular injection at a concentration of 5 IU / g fish live weight. In half of the remaining animals from each treatment, the same saline dosage was applied. The animals were evaluated at 7, 14, and 21 days. After 667 hours-degrees after the application of the hormone were carried out extrusion and spermization by means of celomática massage. Females were observed that showed ease in the release of gametes, and spawning index, absolute and relative fecundity, oocyte diameters and germinal vesicle peripheral position were evaluated. In males, sperm concentration, seminal volume, motility, duration of sperm motility, and sperm integrity were evaluated. The data were submitted to analysis of variance at the 5% level of significance. For females at 14 days there was greater ease of extrusion when separated from males, with application of the hormone. The distribution influenced the spawning weight, the larger diameter, and for the diameters smaller the days and induction presented interference. In males, the days interfered in the increase in volume and duration of semen motility independent of induction and environment, and finally, the environment interfered significantly in semen concentration.

**Keyword:** Reproduction. HCG, Reproductive performance.

## 1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, várias pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de entender melhor o conhecimento da fisiologia da reprodução associada aos estudos de biologia de peixes. Estas pesquisas permitem a determinação de procedimentos de manejo que podem propiciar a maturação gonadal dos peixes em cativeiro, bem como a indução dos processos de maturação final dos gametas e a posterior fertilização (ZANIBONI FILHO & WEINGARTNER, 2007).

Vários fatores, são necessários para que a reprodução seja estimulada e ocorra com sucesso, dos quais fotoperíodo, temperatura, pH, salinidade, pluviosidade. Além disso, reações que ocorrem no interior do organismo e que medeiam alterações hormonais, gonadais e morfológicas se relacionam de forma a contribuir para que seja disponibilizada uma boa eficiência reprodutiva, que em simultâneo agem para que a reprodução venha resultar na obtenção de um grande número de larvas sadias.

Durante a interação destes fatores, informações tácteis, visuais, químicas, acústicas e elétricas podem ser transmitidas, evidenciando que a fisiologia reprodutiva dos peixes pode ser afetada por várias vias sensoriais. Essas informações podem ter diferentes efeitos, de acordo com cada espécie (CREWS, 1998).

Essa comunicação intersexual também ocorre por meio de ferormônios, que são liberados na água (químicas) e detectados por via olfativa. Em várias espécies os feromônios induzem respostas reprodutivas no parceiro sexual, podendo induzir comportamento de corte e acasalamento, construção de ninho, espermição, ovulação ou desova, além de fornecer informações sobre o estado de maturação do peixe (LILEY & STACEY, 1983; FARLEY, 1974).

Dentre as várias espécies cultivadas no Brasil a tilápia *Oreochromis niloticus* destaca-se entre as demais por exibir características de interesse zootécnico. Entretanto, programas de melhoramento eficientes são cruciais para o desenvolvimento da tilapicultura, não só para atender a crescente demanda mundial por pescado, mas também para reduzir os custos de

produção, melhorar a resistência a doenças a conversão alimentar e a qualidade dos produtos e o máximo controle de famílias (GJEDREM, 2000).

Para que programas de melhoramento genético sejam planejados e executados com sucesso é imprescindível que sejam descritos os objetivos. Para que estes objetivos, sejam alcançados faz-se necessário identificar e definir quais características serão medidas (critérios de seleção). Isto requer a estimação de parâmetros genéticos, como herdabilidade da característica envolvidas e as correlações genéticas.

Dessa forma, a elucidação de diferentes mecanismos relacionados à sincronização reprodutiva em tilápias podem proporcionar mais conhecimentos sobre os processos fisiológicos envolvidos na reprodução, bem como facilitar o desenvolvimento dos protocolos de manejo para o melhoramento genético e a criação comercial da espécie.

Diante disto, este estudo objetiva sincronização na reprodução de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como um facilitador no melhoramento genético desta espécie.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Características da tilápia do Nilo

**Figura 1:** Imagem representativa da espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).



Fonte: <https://www.google.com.br/url>

A Tilápia representa o grupo de peixes com maior desenvolvimento na piscicultura mundial apresentando um ótimo crescimento em pouco tempo de cultivo, sendo o segundo mais produzido no mundo depois das carpas. São pertencentes a Família: Cichlidae, oriundas do continente africano, Jordânia e Israel, encontradas nas bacias dos rios Nilo, Níger, Tchade e lagos do Centro Oeste africanos. São Identificadas cerca de 112 espécies e subespécies dos três gêneros existentes: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilápia*, apenas algumas destas possuem importância comercial na piscicultura, como é o caso da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), da tilápia azul ou tilápia áurea (*O. aureus*) e vários híbridos destes como a tilápia de Moçambique (*O. mossambicus*), espécies consideradas adequadas para diferentes sistemas de produção.

Com o avanço dos estudos surgiram algumas linhagens melhoradas geneticamente para atender às expectativas do mercado, como: a Tilápia Tailandesa (Chitralada) registrada no país como Supreme Tilápia Aquabel; e as tilápias de linhagem *Genetic Improved Farmed Tilapia* (GIFT) e *Genetically Male Tilapia* (GMT). As GMT's são conhecidas como super machos por serem machos com genótipo YY, apresentando duas variedades, a Tilápia

Prateada GMT, proveniente de variedades selecionadas na África do Sul, e a Tilápia Vermelha GMT proveniente de uma espécie pura de *O. niloticus* vermelha.

A fase de engorda das tilápias inicia-se a partir dos juvenis pesando em média 30 a 50g até que atinjam o peso para o abate de acordo com as exigências do mercado, situando-se geralmente na faixa de 450 a 800g, alcançados em um período de engorda entre 120 a 180 dias. Este tempo, para que atinjam o tamanho e peso comercial, dependerá de inúmeros fatores como: tipo de alimentação, temperatura, qualidade e renovação da água, densidade de estocagem, sistema de produção utilizado, entre outros,(NEIRA, 2010; PONZONI et al., 2011)

## **2.2 Aquicultura e produção de tilápia no Brasil**

O pescado é a carne mais consumida mundialmente (SIDONIO et al., 2012) e a de maior valor comercial. Porém, no Brasil, seu consumo ainda é baixo, mesmo tendo aumentado nos últimos anos para 11,17 kg por habitante por ano (BRASIL, 2013), valor ainda abaixo do mínimo recomendado pela Organização Mundial de Saúde, que é de 12 kg por habitante por ano (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012), mas 14,5% a mais do que em relação ao ano anterior (Brasil, 2010). Dentre as categorias dos organismos aquáticos produzidos os peixes de água doce responde, atualmente, por 54,7% do volume total e 41,2% da receita total obtida na aquicultura mundial (FAO, 2010).

Segundo dados da (FAO), o desenvolvimento da aquicultura superou o crescimento populacional, resultando na expansão da aquicultura nas últimas três décadas. Em 2014, a produção total da aquicultura foi de 73,8 milhões de toneladas. Destes, 49,8 milhões de toneladas é composta por peixes, e o restante por moluscos, crustáceos e outros animais aquáticos (FAO, 2016). De forma geral, a Ásia foi a que mais contribuiu com a produção de peixes cultivados para consumo humano, e o Brasil encontra-se em 14º lugar na lista dos 25 países que mais contribuíram com a aquicultura mundial (FAO, 2016). O país detém a 3º maior produção aquícola da América Latina, sendo expoente na produção de camarões e tilápias. A produção brasileira de Tilápia, de acordo com levantamento da Associação Brasileira de Piscicultura, foi de 357.639 toneladas em 2017 (Piscicultura, 2018). Esse

importante resultado coloca o Brasil entre os quatro maiores produtores do mundo, atrás apenas de China, Indonésia e Egito.

A indústria brasileira de tilápia cresce vigorosamente, com posição de destaque entre os países americanos. Condições climáticas favoráveis e vastos reservatórios hídricos corroboram para a expansão significativa da produção nacional. Se 2% do potencial hídrico do país fosse utilizado para o cultivo de peixes em tanques-rede, o Brasil estaria entre os maiores produtores mundiais. O estabelecimento da cadeia produtiva da tilápia propicia o desenvolvimento de agro-indústrias de processamento, geração de milhares de empregos, maior produção de alimentos, geração de renda e intercâmbio de tecnologias, incrementando o agro negócio nacional (VERA-CALDERÓM & FERREIRA, 2004).

Para responder o crescimento na produção de tilápia, é indispensável o fornecimento contínuo de quantidade e qualidade de ovos, larvas e alevinos com altas taxas de sobrevivência, formação adequada, tamanho homogêneo, e bom potencial genético que garanta alto rendimento de filé (BHUJEL et al., 2001).

A evolução do cuidado parental nesta espécie se correlaciona no aumento do tamanho do ovo juntamente com uma redução em sua fecundidade absoluta (DUPONCHELLE; POUYARDE; LEGENDRE, 1988; COWARDE; BROMAGE, 2000). A baixa fecundidade e a natureza assíncrona de desova, e outros factores requerem uma manutenção de um grande estoque de reprodutores (BHUJEL et al., 2001).

### **2. 3 Melhoramento genético de tilápias**

Os programas de melhoramento genético trouxeram grandes contribuições para a agricultura e pecuária. Milhares de raças, linhagens e variedades foram produzidas como resultado de décadas de seleção e domesticação de animais terrestres e plantas (LIND et al., 2012).

Em peixes, o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, baseados em informações individuais e de parentes, iniciou na década 70 com salmões e trutas (GALL & GROSS, 1978; KINGHORN, 1983; GJERDE & GJEDREM, 1984; GJEREN &

BENTSEN,1997; REFSTIE,1980), obtendo-se resultados, em termos de ganho genético similares aos de culturas tradicionais como, por exemplo, a variedade melhorada de salmão norueguês, com produção aumentada em mais de 60% e redução do custo médio de produção em mais de 65% de 1985 a 1995.

Para peixes tropicais, os programas de tilápias e carpas são considerados referência, o mais conhecido é o método de seleção para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) coordenado pelo WorldFish Center em 1990. Experiências mostraram que o melhoramento genético pode proporcionar ganhos de até 15% por geração para o ganho em peso dos animais, em programas bem conduzidos (EKNATH et al., 1993, PONZONI et al., 2005, PONZONI et al., 2007), sendo o intervalo de geração fator determinante nos incrementos anuais, dado o tempo gasto pelas espécies para alcançar a maturidade sexual.

No Brasil não existiam programas de melhoramento genético de peixes considerando informações individuais e usando métodos estatísticos para análise genética.No entanto, no ano de 2005 por meio de uma parceria com a Universidade Estadual de Maringá e o WorldFish Center (Malásia), foi introduzido o programa GIFT no país (ASIAN DEVELOPMENT BANK, 2005). Este programa já vem sendo conduzido desde 1991 nas Filipinas e Malásia e tem como objetivo aumentar o ganho de peso de tilápias através do processo de seleção pelo valor genético dos animais.

No entanto, somente um programa de melhoramento não é suficiente para atender todo o Brasil e, mesmo com todos os esforços realizados pelos coordenadores do programa GIFT em difundir o material genético melhorado, existem várias condições de cultivo no país. Dentre eles, podemos destacar o clima, a qualidade da água, e os sistemas de cultivo, em que os animais devem ser testados, que são importantes para o aumento da produção principalmente pela existência da Interação Genótipo x Ambiente (IGA).

A obtenção das famílias de irmãos completos e meios-irmãos em curto período de tempo é muito difícil dentro dos programas de melhoramento de tilápias. O acasalamento em hapas individuais na razão 1:1 (macho-fêmea), assim como a privação do comportamento natural de construção de ninhos pelos machos (TRONG et al., 2013) pode resultar em

períodos superiores a três meses para a obtenção das famílias (PONZONI et al., 2011). Estes fatores podem influenciar no aumento do efeito de ambiente comum de família e reduzindo a acurácia das estimativas dos valores genéticos (BENTSEN et al., 2012). A avaliação genética é de extrema importância para que seja feita a seleção dos animais a partir dos valores genéticos estimados para a característica estabelecida como critério de seleção.

## **2.4 Características reprodutivas da tilápia**

Esta espécie é caracterizada por apresentar reprodução parcelada, com várias desovas anuais e ciclos reprodutivos relativamente curtos, alta prolificidade, disponibilizando um grande número de alevinos viáveis em cada desova. As tilápias possuem ainda cuidado parental e são incubadoras bucais maternas, os machos são territorialistas, constroem ninho para postura e a fêmea incuba e protege os ovos na boca, assim como as larvas dependentes. A maturação sexual acontece por volta dos 3 a 4 meses de idade, se reproduzindo com uma alta frequência (8-12 vezes/ano) porém, com poucos ovos por desova (80-200/fêmea) no início da fase reprodutiva (QUINTERO et al., 2011) e de tamanho médio de 2 a 7,9 mm (DUPONCHELLE & LEGENDRE, 1997; DE GRAAF et al., 1999).

O comportamento de desova assíncrona e a de alta fecundidade, associada a fatores ambientais no ciclo reprodutivo como fotoperíodo, temperatura, alimentação, salinidade e precipitação (COWARD & BROMAGE, 2000) tornam o fornecimento de alevinos um desafio. Estes fatores, fazem com que os alevinocultores tenham que manter grande número de reprodutores em seus plantéis, para garantir a produção constante. Com a intenção de maximizar a produção e sobrevivência da prole da tilápia do nilo, foram estudadas e implementadas técnicas de cultivos comerciais, como o controle dos fatores ambientais que servem de mediadores entre o ambiente e o peixe (BROMAGE et al., 2001).

Fatores relacionados ao manejo, como a densidade de estocagem dos reprodutores têm grande influência na porcentagem de desova, apresentando relação inversa (LOVSHIN, 1982). A baixa densidade de estocagem e a adequada razão macho:fêmeas resultam na alta produção de alevinos (HUGHES & BEHRENDTS, 1983). Quando se trata da razão macho:

fêmea é sugerida 1:2 ou 1:3 (macho-fêmea) como a razão para maximizar a produção de ovos (HUGHES & BEHREND, 1983; SIDDIQUI & AL-HARBI, 1997).

A reprodução parcelada com vários ciclos durante o ano é outra característica reprodutiva da tilápia. Fatores ambientais, variedade utilizada, tamanho das fêmeas, estado nutricional e condições de cultivo exercem grande influência no aumento ou redução do intervalo entre desovas (EL-SAYED, 2006). Intervalo entre desovas variando de 14 a 55 dias já fora relatado por CAMPOS-MENDOZA et al., (2004). A coleta de ovos na boca ou a extrusão das fêmeas são práticas que contribuem para a redução do intervalo entre desovas e permitem a utilização mais eficiente das fêmeas, melhorando a sincronia de desovas (CAMPOS-MENDOZA ET AL., 2004; COWARD & BROMAGE, 2000; LITTLE ET AL., 1993; RIDHA & CRUZ, 2000).

#### **2.4.1 Determinação dos diferentes estádios do ciclo reprodutivo**

No geral a reprodução ocorre uma série de mecanismos envolvidos no ajuste ao processo de maturação gonadal e de desova, por meio de controles hormonais. Para o desenvolvimento gonadal, ocorre um aumento de concentração de gonadotrofinas na hipófise e no plasma, servindo provavelmente para recrutar os ovócitos e iniciar a vitelogênese no período reprodutivo (MURGAS et al., 2009).

Ao longo de cada ciclo reprodutivo, há renovação das células germinativas, sua diferenciação, desenvolvimento, maturação e liberação resultando em alterações gonadais que caracterizam as diferentes fases reprodutivas (QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER, 2013). Com o progresso do ciclo, as gônadas acumulam espermatozoides ou oócitos vitelogênicos até alcançar o pico no momento da reprodução e em razão do acúmulo dessas células, as gônadas sofrem mudanças radicais em sua constituição, alterando sua aparência e peso (BAZZOLI, 2003).

Com base nas características das gonadas é possível fazer a sua classificação das diferentes etapas. Alguns autores as classificaram como: maturação inicial, maturação avançada, regressão e repouso (BAZZOLI, 2003; GONCALVES; BAZZOLI; BRITO, 2006;

GODINHO, 2007). Usando a classificação de Bazzoli (2003) as gônadas apresentam as seguintes características nas diferentes fases gonadais:

- a) Em desenvolvimento ou maturação inicial: as gônadas iniciam o processo de gametogênese e acumulam gradualmente seus produtos e, conseqüentemente, aumentam de peso;
- b) Apto a desova ou liberação de esperma ou maturação avançada: as papilas genitais apresentam-se avermelhadas e o ventre das fêmeas está abaulado, as gônadas atingem seu maior peso e volume, os machos podem liberar sêmen quando sua parede celômatica é pressionada, o estágio maduro é alcançado nos meses de verão;
- c) Regressão: corresponde ao período que se segue à reprodução, em consequência da eliminação dos gametas as gônadas estão reduzidas em tamanho, flácidas e sanguinolentas, ocorre intensa reorganização das gônadas que em breve estarão em regeneração;
- d) Regeneração ou Repouso: as gônadas estão com o menor tamanho, delgadas e translúcidas, a regeneração ocorre nos meses mais frios e secos do ano.

## **2.5 Sincronização reprodutiva de tilapia**

A sincronização reprodutiva de varias espécies envolve uma comunicação que viabiliza a diferenciação sexual entre os indivíduos, disponibilizando informações relacionadas as condições reprodutivas do companheiro, assim estimulando a sincronização para reprodução, durante as interações macho-fêmea (CANDOLIN, 2003). Durante esse período os pares usam diferentes pistas sensoriais, que afectam seus efeitos reprodutivos, comportamento e estado gonadal. Em espécies como *Oncorhynchus*, por exemplo, os indícios visuais e mecânicos das fêmeas induzem a espermição em machos e som produzido por algumas espécies facilita o reconhecimento intra-específico gerando ovulação nas fêmeas (SATO et al., 1987).

O fotoperíodo, e outros fatores ambientais, são os que apresentam maior influência sobre o relógio biológico dos peixes ao afetar o ganho de peso, a ingestão de alimento, a

eficiência alimentar, o gasto de energia, a atividade locomotora, a reprodução, bem como outros parâmetros fisiológicos relacionados ao stress. Portanto, o controle e o conhecimento fisiológico dos ritmos biológicos torna-se fundamental para otimização da produção de peixes (VERAS et al., 2013).

A presença de fêmeas em um grupo de machos de tilápias estimula-os a construir ninhos (GONÇALVES, 1998), embora isso indique o efeito do sexo oposto nos comportamentos reprodutivos, os estímulos específicos que participam da interação macho-fêmea (Químico, visual ou ambos) são desconhecidos, porque tais efeitos provavelmente são geneticamente determinados, entendendo a importância relativa das modalidades sensoriais de reprodução da tilapia, podendo ajudar a controlar a reprodução.

Em relação à técnica de reprodução induzida artificialmente, já tem sido utilizada em tilápia para garantir o momento exato da fertilização, sendo que autores como Senthilkumaran et al. (2002) induziram a desova de *O. niloticus* usando diferentes agentes indutores, como EPC (Extrato Pituitário de Carpa) LH-RH (Hormônio Liberador de LH), hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) e um antagonista da dopamina. O ambiente ou densidade de estocagem também tem sua contribuição na reprodução através da liberação de ferômonios na água pelos machos, que irão estimular os processos reprodutivos em fêmeas.

### 3. Considerações gerais

O Brasil apresenta resultados importantes no crescimento da piscicultura pois entrou recentemente para o seleto grupo dos quatro maiores produtores de Tilápia do mundo. Entretanto, o fato da tilápia se reproduzir naturalmente em cativeiro torna-se um complicador nos métodos de avaliação genética dos indivíduos ou das famílias e na predição acurada de seus valores genéticos.

O controle da reprodução, ou seja, dos acasalamentos e das progenies produzidas, requerem infra-estruturas e manejos específicos que permitam o isolamento das famílias, até que seus membros possam ser marcados e misturados com os demais em um mesmo ambiente. De maneira geral, o processo de avaliação genética envolve a produção e teste de famílias de irmãos completos e de meio-irmão. Para isso, o mais indicado é a utilização de um sistema de acasalamentos hierárquicos, com um macho para duas fêmeas, sendo que cada matriz é mantida em *hapas* individuais. A fêmea com sinais eminentes de desova receberá o macho em seu *hapas*, depois de observada a desova, o macho é retirado e colocado no *hapas* da outra fêmea. Desta forma, podemos esperar que as progênies presentes na mesma *hapas* fossem irmãos completos e de *hapas* diferentes meio-irmãos. Entretanto, estas progênies seriam produzidas em momentos diferentes.

A utilização de técnicas de reprodução induzida, certamente, permitiria a identificação mais confiável das famílias e a produção simultânea de progênies de irmãos completos e de meios-irmãos, pela manipulação direta dos gametas masculinos e femininos. Poucos são trabalhos realizados com reprodução induzida em tilápia, demonstram que ela é possível e que, dentre os hormônios indutores testados, o hCG tem sido eficiente.

#### 4. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuario Peixe BR**, São Paulo, v. 1, p.5-12, 2018.

ALCESTE, C.; JORRY, D. E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América y la Unión Europea. In: **Congreso Sul-Americano de Acuicultura**, 1., 1998, Recife. Anais Recife: SIMBRAq, 1998. p. 349- 364.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S.. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.27, n.2, p.166-172, Abr/Jun, 2003.

ASIAN DEVELOPMENT BANK. An impact evaluation of the development of genetically improved farmed tilapia: and their dissemination in selected countries. Mandaluyong: **Asian Development Bank**, 2005.

BENTSEN, H.B. et al. Genetic improvement of farmed tilapias: genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. **Aquaculture** 338 – 341, 56 – 65, 2012.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**, p. 128, 2010.

BORGES, A.R.; OLIVEIRA, R.F.; ALMADA, V.C. & CANARIO, V.M. Short term modulation of 11-ketotestosterone levels in males of the cichlid fish *Oreochromis mossambicus* during male-female interactions. **Acta etiológica**, v. 1, n.1-2 p.43-48, 1998.

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.

CAMPOS-MENDOZA, A. et al. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. **Aquaculture**, n.1, p. 231- 299 -314, 2004.

CREWS, D. The evolutionary antecedents to love. **Psychoneuroendocrinology**, v. 23, n. 8, p. 751- 764, 1988.

COLDEVELLA, I.J.; BESOLD, C.; FIORI, L.N. Reprodução e criação da Tilápia-doNilo. In: BARCELLOS, L.J.G.; FAGUNDES, M. Policultivo de jundiás, tilápias e carpas: Uma alternativa de produção para piscicultura rio-grandense. Passo Fundo: **Associação Brasileira das Editoras Universitárias**, n. 2, p.180-196, 2012.

DUPONCHELLE, F. & LEGENDRE, M. Influence of space structure on reproductive traits of *Oreochromis niloticus* females. **Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquacultur**, Fitzsimmons, K., ed. Orlando, FL, USA, n. 2, p. 305– 314, 1997.

EKNATH, A.E. et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. **Aquaculture**, v.111, p. 171- 188, 1993.

EKNATH, A. E. et al. Genetic improvement of farmed tilapias: Composition and genetic parameters of a synthetic base population of *Oreochromis niloticus* for selective breeding. **Aquaculture**. v. 27, p.1-14, 2007.

FARLEY, R.D. (1974) Spawning cycle and egg production of zebrafish, *Brachydanio rerio*, in the Laboratory. *Copeia* 1: 195-204. Fernald, R.D. Vision and behavior in an African cichlid fish. **American Scientist**. v. 72, p. 58-65, 1984.

FAO. The state of world fisheriesand Aquaculture 2016, **Contributing to food security and nutrition for all. Rome, Italy, 2016.**

GJERDE, B. AND GJEDREM, T., Estimates of phenotypic and genetic parameters for carcass traits in Atlantic salmon and rainbow trout. **Aquaculture**, v.36, p. 97-110, 1984;

GJEDREM, T. Genetic improvement of cold- water species. **Aquaculture**. v. 31, p. 25-33, Jan. 2000.

GONCALVES, T. L.; BAZZOLI, N.; BRITO, M. F. G. Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Bryconorthotaenia* (Günther, 1864) (Pisces: Characidae) in the São Francisco river, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Biology, São Carlos** , v. 66, n. 2a, p. 513-522, 2006.

HILSDORF, A. W. S. Genética e cultivo de tilápias vermelhas: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 22, n. 1/4, p. 199-205, 1995.

KINGHORN, B.P. A review of quantitative genetics in fish breeding. **Aquaculture**, v.31,p. 283-304, 1983.

LILEY, N.R. & N.E. STACEY. **Hormones, pheromones and reproductive behavior in fish**, In: W.S. Hoar, D.J. Randall & E.M. Donaldson (ed.) Fish Physiology, Academic Press, New York, v. 9B, p. 1– 63, 1983.

LIND, C.E., PONZONI, R.W., NGUYEN, N.H., KHAW, H.L. Selective breeding in fish and conservation of genetic resources for aquaculture. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 4, p. 255 - 263, 2012.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M. Utilização de levedura spray dried na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum, Maringá**, v. 22, n. 4, p. 479-484, 2000.

OLIVEIRA, R.F.; ALMADA, V.C. & CANARIO, A.V.M. Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromismossambicus*. **Hormones and Behavior**, v. 30, p. 2 - 12, 1996.

QUINTERO, L.G.P; PARDO, B.S.G; QUINTERO, A.M.C.P. Manual técnico para la producción de peces de consumo a pequeña y mediana escala en el Departamento de Cundinamarca. Bogotá: **Produmedios**, p. 92, 2011.

REFSTIE, T. Genetic and environmental sources of variation of body weight and length of rainbow trout fingerlings. **Aquaculture**, v. 19, p. 351 - 357. 1980.

Ridha, M.T., Cruz, E.M. Effect of light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. seed production. **Aquaculture Research** v. 31, n. 7, p. 609 -617, 2000.

SANTOS, A.I. **Interação Genótipo – Ambiente e Estimação de Parâmetros Genéticos em Tilapias**. 2009. Tese de (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá , p. 85, 2009.

SIDONIO, L.; et al. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Sectorial**, v.35, p.421-463, 2012.

TRONG, T.Q., ARENDONK, J.A.M., KOMEN, K. Genetic parameters for reproductive traits in female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): I. Spawning success and time to spawn. **Aquaculture**, p. 57 – 64 - 416 - 417, 2013.

TURRA, E. M. et al. Uso de medidas morfométricas no melhoramento genético do rendimento de filé da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, n. 1, p. 29-36, 2010.

VERAS, G.C.; et al. Ritmos Biológicos e Fotoperíodo em Peixes. **Archivos de zootecnia** v. 62, p. 26, 2013.

VERA-CALDERÓN, L.E.; FERREIRA, A.C.M. Estudo da economia de escala na piscicultura em tanque-rede, no estado de São Paulo. **Informações Económicas**, v.34, n.1, p.7-17, 2004.

VENTURIERI, R.; BERNARDINO, G. Hormônios na reprodução artificial de peixes. **Panorama de Aquicultura.**, v.9, p.39-48, 1999.

ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 367-373, 2007.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

**Artigo 1-Sincronização e Indução hormonal na reprodução de tilápia do Nilo**  
*(Oreochromis niloticus)*

Tima Abdul Remane Tuzine

Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Leila de Genova Gaia

Viviane de Oliveira Felizardo

Daniella Aparecida de Jesus Paula

## RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a sincronização sexual de reprodutores de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em cativeiro sob diferentes distribuições e dias. Este estudo foi realizado no setor de piscicultura da Universidade Federal de Lavras, por um período de 21 dias experimentais. Foi conduzido num delineamento de blocos casualizados (DBC), num esquema fatorial  $2 \times 2 \times 3$ , (sendo macho e fêmea, com e sem indução hormonal, e três tempos 7, 14 e 21 dias). Foram utilizados 324 peixes, sendo 180 fêmeas e 144 machos, previamente microchipados com aproximadamente  $250 \pm 12,25$ g de peso corporal. Os animais foram distribuídos em nove tanques de alvenaria, onde o abastecimento de água era de fluxo contínuo. Cada tanque continha 36 animais, sendo que a cada três tanques compreendia um bloco do qual foram repetidos no tempo. Cada um dos tanques esteve composto por: somente machos, outro com 12 machos e 24 fêmeas separados por um vidro e uma tela na parte de baixo e o terceiro tanque com apenas fêmeas. Em cada tratamento, metade dos animais (macho e fêmeas) foi aplicado o hormônio hCG, por meio de uma dose única, na concentração de 5UI/grama de peso vivo de peixe. A metade de animais que restou de cada tratamento, foi aplicada a mesma dosagem de soro fisiológico para que os animais passassem pelo mesmo tipo de estresse. Os animais foram avaliados aos 7, 14, e 21 dias. Passado 667 horas-grau após aplicação do hormônio foi feita extrusão e espermeação mediante massagem celomática. Foram observadas fêmeas que apresentaram facilidade de estrusão de gametas. Para as fêmeas foi avaliado o índice de desova, fecundidade absoluta e relativa, o peso dos ovócitos por cada 1g, os diâmetros, e posição periférica da vesícula germinativa; já nos machos foram avaliados a concentração espermática, o volume (ml), motilidade (%), tempo de duração de motilidade espermática (min) e integridade. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância ao nível de 5% de significância. Para as fêmeas aos 14 dias houve maior facilidade de extrusão quando separadas dos machos, com aplicação do hormônio. A distribuição influenciou no peso de desova, no diâmetro maior, e para os diâmetros menor os dias e indução apresentaram interferência. Nos machos, os dias interferiram no aumento do volume e na duração de motilidade do sêmen independente da indução e ambiente, e por fim, o ambiente interferiu significativamente na concentração do sêmen.

**Palavra-chave:** Reprodução. hCG. Desempenho reprodutivo.

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate the sexual synchronization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) breeding herds under different distributions and days. This study was carried out in the fish farming sector of the Federal University of Lavras, for a period of 21 experimental days. It was conducted in a randomized block design (DBC), in a factorial scheme  $2 \times 2 \times 3$ , (male and female, with and without hormone induction, and three times 7, 14 and 21 days). A total of 324 fish were used, 180 females and 144 males, previously microchipped with approximately  $250 \pm 12.25$  g of body weight. The animals were distributed in nine masonry tanks, where the water supply was continuous flow. Each tank contained 36 animals, with every three tanks comprising a block of which were repeated in time. Each of the tanks was composed of only males, another with 12 males and 24 females separated by a glass and a screen on the bottom and the third tank with only females. In each treatment, half of the animals (male and female) were applied the hCG hormone, in a single dose at a concentration of 5 IU / gram fish live weight. Half of the remaining animals from each treatment were given the same dosage of saline for the animals to undergo the same type of stress. The animals were evaluated at 7, 14, and 21 days. After 667 hours-degree after application of the hormone was made extrusion and spermatozoa by celomática massage. It was observed females that showed ease of extrusion of gametes. For the females, spawning index, absolute and relative fecundity, oocyte weight per 1 g, diameters, and germinal vesicle peripheral position were evaluated; the sperm concentration, volume (ml), motility (%), duration of sperm motility (min) and integrity were evaluated in males. The data were submitted to analysis of variance at the 5% level of significance. For females at 14 days there was greater ease of extrusion when separated from males, with hormone application. The distribution influenced the spawning weight, the larger diameter, and for the diameters smaller the days and induction presented interference. In males, the days interfered in the increase in volume and duration of semen motility independent of induction and environment, and finally, the environment interfered significantly in semen concentration.

**Keyword:** Reproduction. hCG. Reproductive performance.

## 1. INTRODUÇÃO

As tilápias (*Oreochromis niloticus*) constituem o segundo grupo de peixes mais cultivados do mundo. De acordo com estimativas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a produção de tilápia aumentará em 30% até 2030. No Brasil, a tilápia do Nilo é a espécie mais cultivada na aquicultura com uma produção anual 357.639 toneladas em 2017, representando 51,7% da produção total (Piscicultura, 2018).

O eixo hipotálamo-hipófise-gônadas é responsável em regular a reprodução nos peixes, assim as interações entre machos e fêmeas afetam esse eixo, desencadeando respostas fisiológicas, como a secreção de hormônios reprodutivos e o desenvolvimento das gônadas, e comportamentais, como corte, perseguição, desova e espermição nos membros participantes. Dessa forma, a comunicação visual e química com um peixe do sexo oposto pode modular a reprodução (GONÇALVES-DE-FREITAS & NISHIDA, 1998).

Estudos com indução hormonal foram desenvolvidos podendo ser observado que a indução em conjunto com o fotoperíodo e temperatura, há resultado satisfatório no amadurecimento gonadal de peixes fora do período reprodutivo (SLATER et al. 1995). SOUZA et al. (2016., 2018), avaliaram a aplicação do hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG) em fêmeas de duas variedades de tilápias, GIFT e UFLA, em diferentes tempos de aplicação e observaram que a indução hormonal foi influenciada pela variedade e pelo horário de aplicação. Porém, diferentes distribuições de tilápias com a indução hormonal ainda não foram verificadas para as características reprodutivas de machos e fêmeas.

O comportamento reprodutivo também é influenciado pelos fatores endógenos os quais iniciam e medeiam alterações hormonais, gonadais e morfológicas, determinando assim quando os fatores exógenos serão funcionais (STACEY, 1984; CASTRO, 2009). Fotoperíodo, temperatura, pH, salinidade e pluviosidade, preparam o animal para que a reprodução ocorra em condições ambientais adequadas (LILEY, 1982; CASTRO, 2009). Assim, tanto interações entre animais de mesmo sexo como entre animais de sexo oposto podem afetar o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas.

Indivíduos do mesmo sexo ou opostos, transmitem durante suas interações, informações tácteis, visuais, químicas, e elétricas, evidenciando que a fisiologia reprodutiva pode ser afetada por várias vias sensoriais. Segundo CREWS (1998), essas informações podem ter diferentes efeitos, de acordo com cada espécie.

A característica de desova assíncrona para o melhoramento genético torna-se um entrave para na identificação das famílias e na predição acurada dos seus valores genéticos, desta forma a sincronização reprodutiva em tilápia com manipulação de hormônios indutores e distribuições adequadas podem trazer informações desejadas para obtenção de famílias homogêneas, fertilização *in vitro* e na identificação parental. As induções químicas podem ainda ser utilizadas para antecipar o período reprodutivo, restringí-lo ou mesmo sincronizar a reprodução de um lote de matrizes. Estes fatores possibilitam ao produtor obter alevinos em épocas em que a lucratividade seja maior, ou em que o cultivo seja finalizado em período no qual a comercialização seja otimizada (VENTURIERI, BERNARDINO, 1999, SOUZA et al 2016).

Além dos fatores que estimulam a reprodução, a distribuição adequada dos animais é importante, tanto para o máximo aproveitamento do espaço ocupado pelo peixe, quanto para o manejo tecnológico possibilitando maior produtividade e redução nos custos.

Portanto, o presente estudo, tem como objetivo a sincronização na reprodução de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como uma importante ferramenta no melhoramento genético da espécie.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os procedimentos adotados durante todo o experimento foram aprovados pelo comitê de Ética no Uso Animal da Universidade Federal de Lavras, protocolo n° 056/18.

### **2.1 Procedimentos Gerais**

O estudo foi realizado no setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, entre os meses de março e abril, totalizando 21 dias experimentais. Os exemplares de tilápia do Nilo foram obtidos no plantel de animais do

próprio setor. Foram utilizados 324 peixes, sendo 180 fêmeas e 144 machos, previamente microchipados com peso médio de aproximadamente  $250 \pm 12,25$ g de comprimento.

Os animais foram distribuídos em 9 tanques de alvenaria, com dimensões de 2x4x1,5m (largura/comprimento/profundidade) e fluxo contínuo de água. Diariamente os peixes foram alimentados às 8h e às 14h, com ração extrusada contendo 36% de proteína. Em seguida, foram realizadas as aferições médias de, temperatura ( $20 \pm 3,79$  °C) e pH ( $7,8 \pm 0,3$ ) durante todo o período experimental.

As fêmeas foram selecionadas, mediante observação das características como: abdômen abaulado e macio ao toque, papila urogenital proeminente e de coloração rosada ou avermelhada, orifício genital ligeiramente aberto, de fácil extrusão por meio de massagem na papila urogenital e que continham ovócitos maduros, de modo, que todas entrassem no experimento na mesma fase de maturação. Os machos por sua vez, foram selecionados mediante facilidade de espermiacão pela massagem da cavidade celomática.

Em cada tanque foram distribuídos um total de 36 animais, sendo que a cada três tanques compreendia um bloco repetidos no tempo. Cada bloco foi composto da seguinte forma: 36 machos, outro com 12 machos e 24 fêmeas separados por um vidro e uma tela na parte de baixo e o terceiro tanque com 36 fêmeas (Figura 2). Em cada tratamento, metade dos animais (macho e fêmeas) foi aplicado o hormônio hCG, por meio de injeção intramuscular em dose única, na concentração de 5UI/g de peso vivo de peixe. O restante dos animais que não foram induzidos hormonalmente, receberam a aplicação de soro fisiológico para que passassem pelo mesmo tipo de manejo.

**Figura 2:** A esquerda o total de 9 tanques, e a direita um tanque com divisão do vidro e tela por baixo para disponibilizar o contacto visual e químico entre os indivíduos.

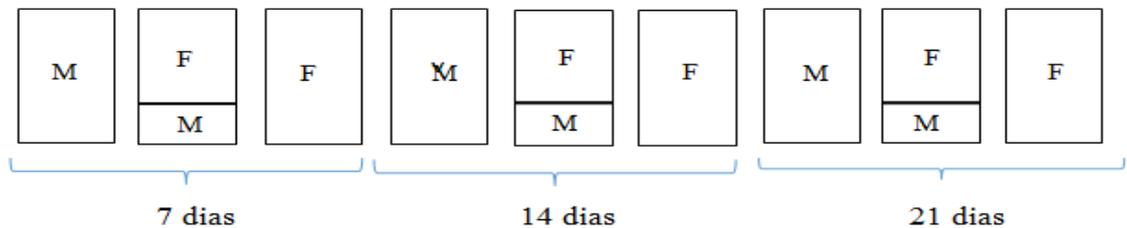


Fonte: Do autor (2018).

## 2.2 Descrição dos métodos experimentais

Para o início do experimento, foram colocados os animais avaliados durante 21 dias, sendo um tanque para cada distribuição, totalizando 3 tanques. Após 7 dias, foram distribuídos nos tanques os animais avaliados por 14 dias, sendo um tanque para cada tratamento, totalizando mais 3 tanques. Por fim, após 7 dias, fez-se a entrada do último grupo de animais que permaneceu no experimento por 7 dias, sendo um tanque para cada, totalizando 3 tanques.

**Figura 3.** Esquema representativo das distribuições dos tratamentos. Em cada tanque metade dos animais foi induzida com o hormônio hCG e a outra metade induzida com soro fisiológico. 36M: 36 machos. 24F: 24 fêmeas. 12M: 12 machos. 36F: 36 fêmeas.



Fonte: Do autor (2018).

Os peixes foram distribuídos em tanque de alvenaria, dos quais 3 deles foram divididos por um vidro e uma tela na parte de baixo, proporcionalmente para os machos e fêmeas, de modo que não houvesse contato físico, somente químico e visual.

O critério para utilização do tamanho da amostra nos tanques que continham machos e fêmeas foi baseado em estudos anteriores (SIDDIQUI & AL-HARBI, 1997; TSADIK & BART, 2007), onde foi observado maior produção de ovos, maior taxa de fertilidade e menores taxas de mortalidade provenientes de briga, quando da utilização de um macho para duas fêmeas. Com isso, o presente estudo segue proporção já estabelecida, levando ainda em consideração o tamanho dos tanques de alvenaria disponíveis para o estudo, com uma densidade que não comprometa o desenvolvimento dos animais, nem provoque estresse por superpovoamento.

Para os tanques que continham somente machos ou somente fêmeas, o critério utilizado foi o número de peixes pré-estabelecidos no tratamento com machos junto com fêmeas, para que a densidade não fosse uma fonte de variação entre os tratamentos.

Após 21 dias da entrada dos primeiros animais, sendo que os outros completaram 14 e 7 dias, estes foram submetidos a um período de restrição alimentar de 24 horas e metade dos animais de cada tanque foi induzido artificialmente por via intramuscular com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), CHORULON<sup>®</sup> 5000 UI. A aplicação foi realizada na base da nadadeira dorsal com dose total de 5 UI/g de peso de peixe. Os demais animais que não receberam a dose de hCG, receberam aplicação de soro fisiológico, na base da nadadeira dorsal, de modo que todos passaram pelo mesmo manejo que os demais.

### **2.2.1 Extrusão dos gametas**

A temperatura dos tanques foi aferida a cada hora para se obter o momento de extrusão de 667 horas-grau, e quando obtido este tempo foi realizada a extrusão dos gametas (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Todas as fêmeas e machos pertencentes a todos os tratamentos e tempos, submetidos a indução hormonal ou a solução fisiológica, individualmente, tiveram a papila urogenital e as superfícies circunjacentes limpas e secas com toalha de papel e em seguida foram submetidas à massagem abdominal com suave

movimento antero-posterior, para a extrusão total dos gametas. Durante a extrusão dos gametas nas fêmeas, foram avaliados diferentes níveis de extrusão, dos quais foram classificados como FÁCIL E DIFÍCIL por fêmea.

### 2.2.2 Avaliação do ovócito

Os ovócitos foram coletados, pesados e 1g foi retirado e destinado para determinação do número de ovócitos/g. O diâmetro (mm) foi aferido em 10 ovócitos de cada fêmea, previamente imersos em solução de Gilson (5mL de álcool 60%, 44 mL de água destilada, 0,7g de ácido nítrico 80%, 1g de cloreto de mercúrio e 0,9mL de ácido acético glacial).

Para a análise da posição periférica da vesícula germinativa (PPVG %), 10 ovócitos de cada fêmea foram imersos em solução de etanol, formol e ácido sulfúrico (60:39:1). A análise de diâmetro e PPVG foi realizada com auxílio de microscópio ótico (Nikon Eclipse E200) na objetiva de 40x (Vazzoler, 1996).

Após verificar a quantidade de ovócitos/g de cada peixe, foram realizados os seguintes cálculos:

Índice de desova	$ID=(PD/PF) \times 100$	Eq.1
Fecundidade absoluta	$FA=(PD \times NO)$	Eq.2
Fecundidade absoluta relativa para peso	$FARP=(FA/PT)$	Eq.3
Fecundidade absoluta relativa para comprimento	$FARC=(FA/CT)$	Eq.4

Em que: ID: Índice de desova; FA: Fecundidade absoluta; FARP: Fecundidade absoluta relativa para peso; FARC: Fecundidade absoluta relativa para comprimento ; PD: peso da desova; PF: peso da fêmea; NO: número de ovócitos em 1g; PT: peso total do animal; CT: comprimento total do animal

### 2.2.3 Avaliação do sêmen

Osêmen de cada macho foi coletado por compressão abdominal e retirado com ajuda de uma seringa de 3 ml. Foram avaliadas as seguintes características no sêmen: volume total (ml), concentração (número de espermatozoides/mL), taxa de motilidade (%), duração de motilidade (s) e integridade.

Para avaliação da concentração espermática do sêmen *in natura* foi realizada uma diluição em solução de formol: citrato na proporção de 10:1000 (semen:solução). A avaliação

foi realizada em câmara de Neubauer em microscópio ótico (Nikon Eclipse E200). A concentração espermática foi estimada pela fórmula: *Concentração (espermatozóide/mL) = somatório 5quadrados  $\times 10^4$  (profundidade, diâmetro e fator correção de Neubauer)  $\times$  diluição.*

As taxas de motilidade e a duração da motilidade espermática foram verificadas em uma alíquota de 10 $\mu$ L de sêmen em lâmina histológica previamente ativada com água na proporção 1:5 (sêmen: solução ativadora) visualizados em microscópio ótico (Nikon Eclipse E200) no aumento de 400x. A taxa de motilidade espermática foi avaliada através da porcentagem média de espermatozóides móveis em três campos aleatórios. A duração da motilidade, em minutos, foi registrada desde a ativação até que somente 10% dos espermatozoides se encontrassem ativos (MURGAS et al., 2007; FELIZARDO et al., 2010).

A integridade foi avaliada através de uma alíquota de 10 $\mu$ L de sêmen em lâmina histológica onde foi adicionado os corantes necrosina e eosina para subsequente esfregão e verificado em microscópio ótico (Nikon Eclipse E200) para identificação de células viáveis e não viáveis.

Os parâmetros reprodutivos foram avaliados pelas metodologias utilizadas por COWARD e BROMAGE (1999a, 1999b) e GODINHO (2007).

### **2.3. Análise estatística**

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC), num esquema fatorial 2 $\times$ 2 $\times$ 3, (manutenção de machos e fêmeas, com e sem indução hormonal, e tempos de estocagem 7, 14 e 21 dias).

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância adotando-se o nível de 6% de significância através do Programa Computacional R.

### 3. RESULTADOS

#### Fêmeas

Os resultados encontrados para as respostas dos animais à indução estão apresentados na Tabela 1. Há tendências da tilápia responder a indução hormonal como um regulador do comportamento reprodutivo, dependendo dos dias e ambiente em que elas se encontram, disponibilizando garantias na facilidade de extrusão de gametas, para possíveis manipulações e fertilização em programas de seleção genética.

**Tabela 1-** Porcentagem (%) de fêmeas de tilápias que apresentaram facilidade ou dificuldade de extrusão quando mantidas em diferentes distribuições e dias experimentais.

Dias	N	Distribuição	Fácil (%)	Difícil (%)
7	n=24	jun-sor	66,67	33,33
		jun-hor	50,00	50,00
	n=36	sep-sor	50,00	50,00
		sep-hor	55,56	44,44
14	n=24	jun-sor	66,67	33,33
		jun-hor	75,00	25,00
	n=36	sep-sor	24,41	50,79
		sep-hor	83,33	16,67
21	n=22	jun-sor	66,7	27,27
		jun-hor	81,82	18,18
	n=36	sep-sor	72,22	27,78
		sep-hor	72,22	27,78

Legenda: jun-sor = fêmeas juntas com os machos sem indução hormonal; jun hor= fêmeas junta com os machos com indução hormonal; sep-soro = fêmeas separadas dos machos sem indução hormonal; sep-hor = fêmeas separadas dos machos com indução hormonal.

Fonte: Adaptado do autor (2018).

É possível notar que os animais sem indução hormonal aos 7 dias de estocagem apresentaram maior facilidade de extrusão quando mantidas juntas com os machos tendo contato visual e químico, e quando estocadas junto com os machos com o indutor hCG, e separadas dos machos sem o indutor foram difíceis de extrusar. Porém, neste período, pelo menos 66,67% das fêmeas foram consideradas de fácil extrusão.

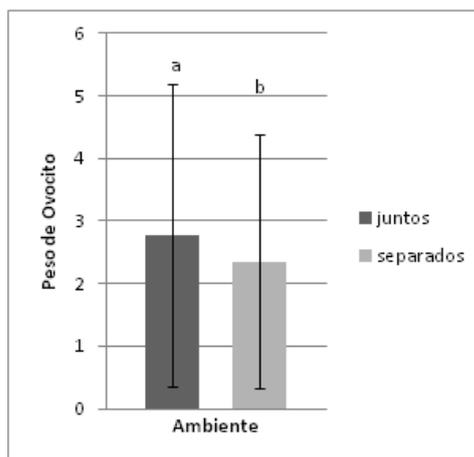
As fêmeas induzidas após 14 dias de estocagem apresentaram maior facilidade de extrusão quando separadas dos machos com aplicação do indutor hCG, e consideradas difíceis de extrusar quando estavam estocadas separadas sem aplicação do hormônio. Neste período, 83,33% das fêmeas que estavam separadas e com indução hormonal foram consideradas de fácil extrusão. Neste mesmo período, a indução hormonal proporcionou um aumento de 16,66% nas fêmeas que estavam separadas.

As fêmeas estudadas por 21 dias quanto à extrusão apresentaram maior facilidade, quando estiveram juntas com o macho mantendo contato visual e químico, com aplicação do hormônio e difícil quando estão separadas independente da indução. Neste período, pelo menos 81,82% das fêmeas foram consideradas de fácil extrusão juntas com indução hormonal.

É possível observar uma maior porcentagem de fêmeas de fácil extrusão aos 14 e aos 21 dias com a indução hormonal independente da distribuição e dias apresentaram melhores resultados para facilidade.

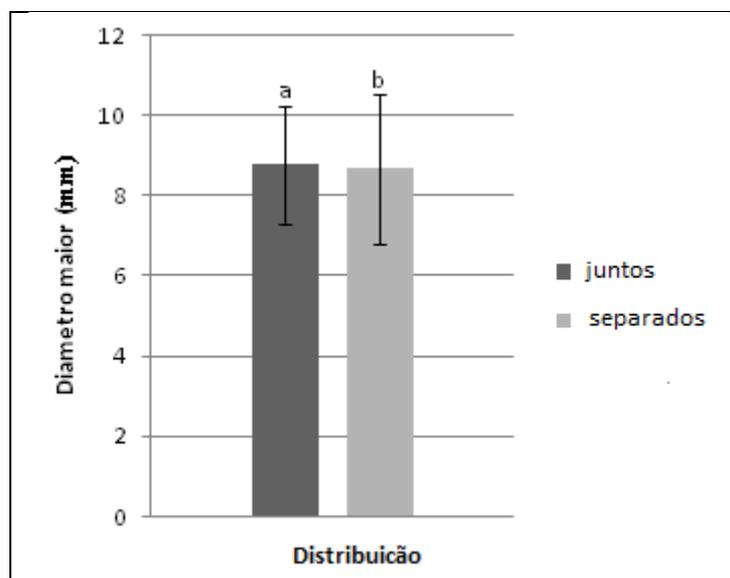
Neste estudo foi observado que o ambiente influenciou em fêmeas mantidas com os machos independente da indução hormonal e dias pois apresentaram aumento ( $P < 0,05$ ) no peso total da desova, (FIGURA.2.1).

**Figura 2.1.** Peso médio (g) dos ovócitos de tilápias (*O. niloticus*) submetidas a diferentes distribuições. <sup>a,b</sup>Médias seguidas de diferentes letras apresentam diferenças entre si.



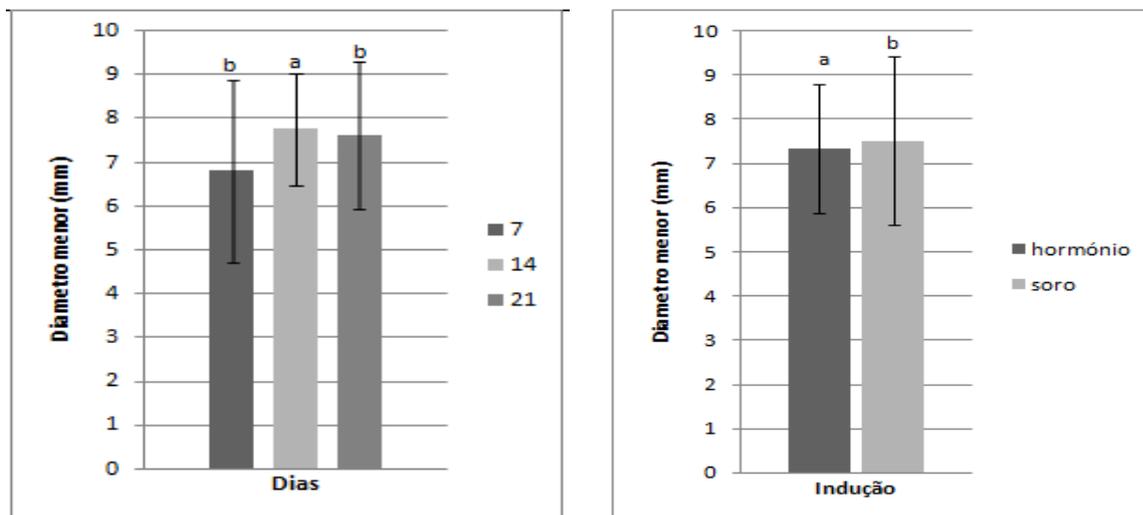
Para as avaliações dos diâmetros maior (mm), houve influência das distribuições no aumento do diâmetro maior ( $P < 0,05$ ), independente da indução hormonal e dias de estudo, como pode ser observado na (Fig. 2). Este resultado pode ter sido evidenciado pelas interações macho-fêmea no comportamento reprodutivo.

**Figura 2.2.** Diâmetro maior (mm) dos ovócitos de tilapias (*O. niloticus*) submetidas a diferentes ambientes. <sup>a,b</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.



Entretanto, para as variáveis dos diâmetros menor os dias e a indução de hormônio influenciaram ( $P < 0,05$ ) (Fig.3) sendo que aos 14 dias houve maior número de fêmeas com aumento do diâmetro menor em relação aos 7 e 21 dias.

**Figura 2.3** Diâmetro menor (mm) dos ovócitos de tilápias (*O. niloticus*) submetidas a diferentes distribuições. <sup>a,b</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.



Para as variáveis quantidade de ovócito, e posição da vesícula germinativa, não houveram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) nas condições estudadas, visto que a média da fecundidade absoluta observada nos dias foram homogêneas, tendo se obtido (aos 7 dias = 377,72), (14 dias = 452,28), (21 dias = 379,56), com tendências de aumento na quantidade aos 14 dias, mas insuficiente para que seja demonstrado diferenças estatisticamente a indução hormonal, os dias de estocagem e as distribuições, a indução hormonal não influenciaram nestas variáveis.

Para as variáveis índice de desova ou quantidade de desova por g de ovócito, as distribuições, os dias e a indução, estatisticamente não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ).

Com relação ao peso de desova foi possível verificar que as fêmeas apresentaram tendências no aumento do peso de desova por aplicação de hormônio, distribuições e dias de estocagem (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e desvios dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilapia aos 7, 14 e 21 dias de experimento sob diferentes distribuições e indução.

	Variáveis	P.D (g)	I.D%	F.A	Q.O (1g)	FARP	FARC	PPVG (%)	
Tratamentos	jun+ sor	3,73±3,02	1,32±1,24	506,10±432,64	120,6±36,30	2,11±1,94	21,38±17,46	3,78±1,98	
	jun +hor	2,11±1,76	0,90±0,51	395,08±321,31	141,9±72,65	1,47±0,96	16,02±12,15	4,00±1,09	
	7 Dias	sep+sor	1,97±1,78	0,92±0,69	300,18±222,88	120,0±88,20	1,27±0,94	12,55±9,20	2,94±1,91
		sep+hor	2,09±1,54	1,11±0,77	309,52±227,23	152,26±76,88	1,62±1,07	13,98±10,03	3,88±1,40
Tratamentos	jun+sor	2,43±2,11	1,06±0,99	405,48±383,34	111,66±87,70	1,71±1,59	18,07±16,81	5,00±0,81	
	jun+hor	2,93±3,04	1,65±1,26	536,93±469,95	88,75±65,88	2,22±1,88	23,48±20,03	4,42±2,29	
	14 Dias	sep+sor	1,09±1,28	0,53±0,53	199,10±225,45	116,17±84,92	0,80±0,87	8,51±9,14	6,46±1,76
		sep+hor	4,40±3,70	1,51±1,20	667,61±629,06	160,37±57,44	2,24±1,87	26,60±23,31	4,47±0,94
Tratamentos	jun+ or	2,46±2,14	1,15±1,13	449,99±363,86	182,81±132,64	2,02±1,73	20,59±16,91	3,66±1,00	
	jun +hor	3,00±2,37	1,32±1,30	543,07±298,13	213,72±149,29	2,15±1,60	23,91±13,62	4,90±1,81	
	21 Dias	sep+sor	1,77±0,87	1,75±1,58	564,09±94,34	224,39±97,58	3,72±1,07	16,04±11,87	4,12±1,25
		sep+hor	2,78±2,95	1,12±1,11	448,69±476,18	150,88±77,63	1,86±1,91	20,83±22,48	4,12±1,54

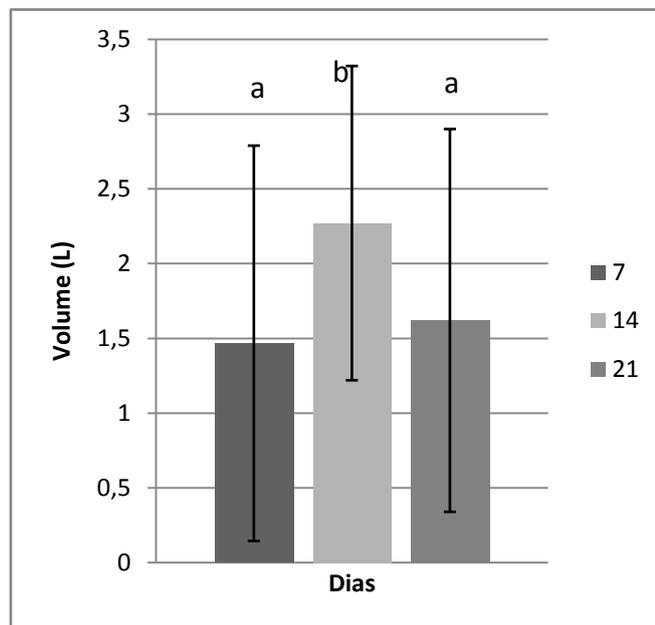
P. Desova peso de desova, I. Desova Índice de desova, F. Absoluta Fecundidade Absoluta, Q. ovócito= Quantidade de ovócito em cada 1g, FARP= Fecundidade Absoluta Relativa ao Peso; FARC= Fecundidade Absoluta Relativa ao Comprimento; PPVG= Posição Periférica da Vesícula Germinativa. jun-sor = fêmeas juntas com os machos sem indução hormonal; jun-hor = fêmeas junta com os machos com indução hormonal; sep-soro = fêmeas separadas dos machos sem indução hormonal; sep-hor = fêmeas separadas dos machos com indução hormonal.

Fonte: Adaptado do autor (2018)

## Machos

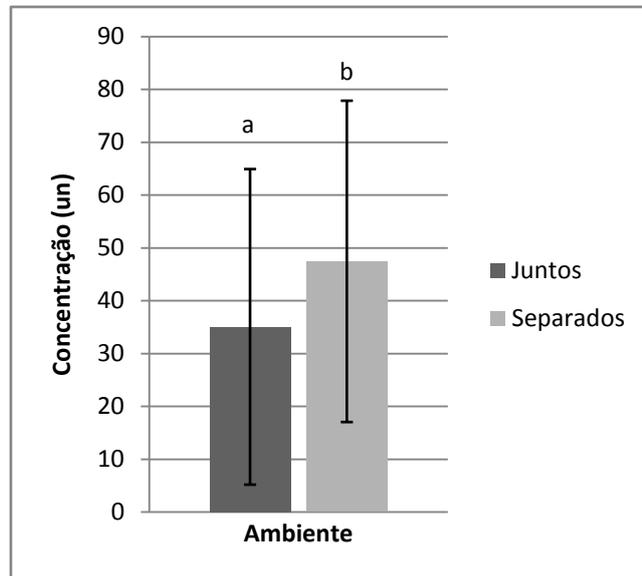
Os resultados encontrados para volume seminal em relação aos dias de distribuição estão apresentados na Figura 4. Ao observar as análises, neste estudo independente da indução e ambiente é possível verificar que os dias influenciaram no aumento do volume do sêmen ( $P < 0,05$ ) aos 14 dias.

**Figura 2.4.** Volume médio (mL) do sêmen de tilápias (*O niloticus*) submetidas ao tratamento por até 21 dias. <sup>a,b</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.



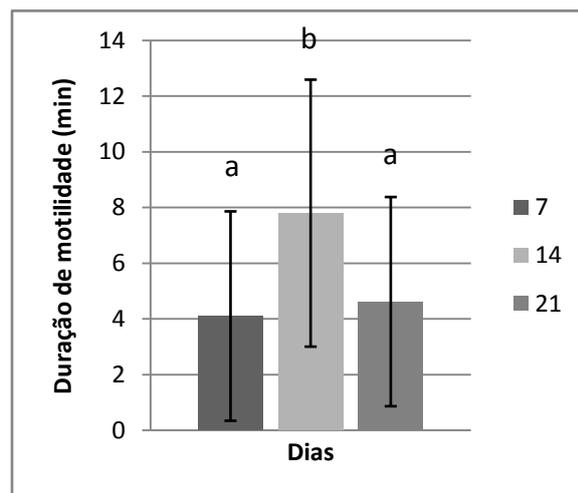
Neste estudo, as análises de concentração foram maiores em machos separados das fêmeas independentes da aplicação do hormônio e distribuição ( $P < 0,05$ ) (Fig.2.5).

**Figura 2.5.** Concentração média ( $\times 10^9$  mL) dos espermatozoides de tilápias (*O niloticus*) submetidas as diferentes distribuições.



Para duração de motilidade, neste estudo verificou-se que os dias também influenciaram nos resultados sendo significativos aos 14 dias ( $P < 0,05$ ), (Fig.2.6).

**Figura 2.6.** Duração da motilidade (min) para o sêmen de tilapia (*O. niloticus*) submetidas a diferentes dias de estocagem



Para as variáveis de motilidade não apresentaram diferenças estatísticas ( $P > 0,05$ ), tendo sido encontradas taxas médias de 87,77 % aos 7 dias, aos 14 dias 98,33% e 21 dias 78% (Tab.5).

As análises de integridade seminal em todos os tratamentos não apresentaram diferenças significativas estatisticamente (Tab.5) e os maiores resultados foram observados aos 14 dias de estudo (73,32%), em indivíduos com indução hormonal.

Tabela 5. Médias e desvios dos parâmetros reprodutivos de machos de tilapia sob diferentes distribuições e indução aos 7, 14 e 21 dias de experimento

	Variáveis	Motilidade (%)	Integridade	
<b>Tratamentos</b>	jun+soro	52,80±32,27	51,00±55,95	
	jun+hor	80,00±40,00	84,16±42,72	
	<b>7 Dias</b>	sep+soro	60,58±47,09	98,00±38,07
		sep+hor	87,77±32,09	102,77±29,05
<b>Tratamentos</b>	jun+soro	98,33±4,08	110,83±9,75	
	jun+hor	81,66±40,20	101,58±51,10	
	<b>14 Dias</b>	sep+soro	89,41±21,35	106,20±13,37
		sep+hor	85,26±30,61	113,92±22,56
<b>Tratamentos</b>	jun+soro	78,00±43,81	98,10±58,06	
	jun+hor	55,00±44,60	77,00±61,53	
	<b>21 Dias</b>	sep+soro	58,50±46,37	69,92±52,54
		sep+hor	70,00±44,98	95,47±45,64

Fonte: Adaptado do autor (2018)

## 4. DISCUSÃO

### Fêmeas

A extrusão dos animais é um passo importante no desenvolvimento da reprodução dos peixes. É possível notar que os animais sem indução hormonal aos 7 dias de estocagem apresentaram maior facilidade de extrusão quando mantidas juntas com os machos tendo contato visual e químico, e quando estocadas juntas com os machos com o indutor hCG, e separadas dos machos sem o indutor foram difíceis de extrusar. Porém, neste período, pelo menos 66,67% das fêmeas foram consideradas de fácil extrusão.

Há tendências da tilápia responder a indução hormonal como um regulador do comportamento reprodutivo, dependendo dos dias e ambiente em que elas se encontram, disponibilizando garantias na facilidade de extrusão de gametas, para possíveis manipulações e fertilização em programas de seleção genética.

As fêmeas induzidas após 14 dias de estocagem apresentaram maior facilidade de extrusão quando separadas dos machos com aplicação do indutor hCG, e consideradas difíceis de extrusar quando estavam estocadas separadas sem aplicação do hormônio. Neste período, 83,33% das fêmeas que estavam separadas e com indução hormonal foram consideradas de fácil extrusão. Neste mesmo período, a indução hormonal proporcionou um aumento de 16,66% nas fêmeas que estavam separadas. O aumento dessa variável nos peixes pode estar relacionado com a capacidade do hCG e as interações durante o contato visual e químico entre machos e fêmeas estocados no mesmo ambiente, estimulando a liberação de ferormônios na água, que por sua vez acelera a maturação folicular ovariana.

As fêmeas estudadas por 21 dias quanto à extrusão apresentaram maior facilidade, quando estiveram juntas com o macho mantendo contato visual e químico, com aplicação do hormônio e difícil quando estão separadas independente da indução. Neste período, pelo menos 81,82% das fêmeas foram consideradas de fácil extrusão juntas com indução hormonal.

Houve uma tendência no aumento do peso de desova por aplicação de hormônio, ambiente e dias de estocagem. Estes resultados vêm confirmar as respostas encontradas em diversos trabalhos com tilápias, da sua alta prolificidade bastando que as condições ambientais físicas e fisiológicas estejam garantidas. (NETO et al, 2015; SOUZA e tal, 2016)

ZANIBONI FILHO & WEINGARTNER, (2007) afirmam que os hormônios indutores têm influenciado, no aumento do peso da desova. Durante interações, informações tácteis, visuais, químicas, acústicas e elétricas podem ser transmitidas, evidenciando que a fisiologia reprodutiva dos peixes pode ser afetada por várias vias sensoriais. Essas informações podem ter diferentes efeitos, de acordo com cada espécie (CREWS, 1998).

Desta forma o aumento de peso de desova encontrados neste estudo, podem estar relacionados as diversas interações transmitidas pelos animais de sexo oposto mantidos no mesmo ambiente de estocagem. Tratando-se de reprodução de tilápias, é observado que alguns fatores ambientais são mais importantes em relação aos outros, desta forma os melhores resultados são obtidos considerando o ambiente e genética em conjunto, oferecendo melhores condições para a obtenção do maior desempenho.

Relatos sobre avaliações do diâmetro mostram que, quando se tem aumento do diâmetro significa que há influência na sobrevivência das larvas, sendo um bom sinal para o aumento na quantidade de reservas energéticas (KJORSVIK et al., 1990; BROOKS et al., 1997; BONISLAWSKA et al., 2001; SOUZA et al., 2016), neste sentido os resultados encontrados neste trabalho, são de grande contribuição para a evolução reprodutiva de tilápias, garantindo qualidade de desova e na sobrevivência de futura geração.

O aumento do tamanho dos ovos em peixes pode ser influenciado pelas condições físicas e fisiológicas dos reprodutores, devido à idade, critérios de seleção e condições ambientais (KJORSVIK et al., 1990; BROOKS et al., 1997; BONISLAWSKA et al., 2000). No entanto, a variação no tamanho dos ovos encontrados neste estudo, das quais fêmeas induzidas e separadas dos machos estão acima do que autores como BERM & AVTALION (1990), DE GRAAF et al., (1999) referenciam como diâmetros normais variando entre 2 e 7,9 mm e 2,0 e 3,0mm. Segundo autores como BONISLAWSKA et al., (2000) diâmetro dos

ovócitos pode ser utilizado como parâmetro de qualidade de desova, quanto maior o diâmetro melhor é a qualidade desta desova e da futura prole.

A possibilidade de controlar o ciclo reprodutivo dos organismos submetidos a condições de confinamento é um dos fatores de maior importância para assegurar o sucesso da piscicultura, sendo que a indução à desova em peixes usando hormônios tem garantido a obtenção de ovos férteis, permitindo a descrição embrionária de várias espécies, e em alguns casos, maior produção de famílias saudáveis (MATA et al., 2004; MYLONAS et al., 2010).

Segundo FELIZARDO et al, (2012), para obter uma alta taxa de fertilização, é necessário que o sêmen e os ovócitos estejam em perfeitas condições de utilização, sendo que para desova, uma das principais características é a posição de vesícula germinativa na posição periférica, provavelmente a temperatura mais baixa pode ter influenciado nos resultados de posição periférica da vesícula germinativa, pois embora as fêmeas apresentaram facilidade de extrusão, a qualidade dos ovócitos não foram diferentes entre os tratamentos.

A indução hormonal em tilápias com (LH-RH, antagonista da dopamina e hCG é um método que vem sendo usado como forma de garantir o melhor tempo/hora para fertilização de gametas em programas de seleção genética (MYLONAS; ZANUY, 2010). Porém, para que estes procedimentos nos tragam bons resultados é imprescindível que os gametas estejam prontos para que sigam com o seu processo até a obtenção de famílias saudáveis.

## **Machos**

O sêmen dos peixes pode ser avaliados de diferentes formas, dependendo da espécie, indivíduo, método de coleta, entre outros fatores. É importante fazer-se análises para que com os resultados se tenha possibilidade de conhecer a proporção certa para fertilizar um determinado número de ovócitos, proporcionando boa fertilização e número de larvas desejadas num único lote.

O tratamento hormonal aplicado algumas horas antes da coleta é frequentemente utilizado para se aumentar o volume de sêmen. Este método, também facilita a coleta porque estimula a hidratação testicular que causa aumento do volume de sêmen, entretanto, simultaneamente, ocorre redução da concentração espermática (VIVEIROS et al., 2002, GODINHO, 2004). Como observados neste estudo os valores de volume e concentração foram influenciados pelos dias e pelas diferentes distribuições

Os valores encontrados são observados por SOUZA et al (2016) que encontraram 0,9 mL para variedade GIFT e 0,69 mL para variedade UFLA com aplicação de hormônio. Segundo autores como VIVEIROS E GODINHO (2009) o volume seminal é um fator importante no processo reprodutivo e que tanto em espécies migratórias na época de reprodução quanto em animais induzidos com hormônio é bastante variável. O sucesso da reprodução depende da máxima utilização dos gametas disponíveis, o que significa fertilizar o maior número de ovócitos com a menor quantidade de espermatozóides (BILLARD et al., 1996). Assim o volume seminal é uma variável que deve ser analisada em comum com a concentração, duração de motilidade e motilidade seminal, isto porque quanto maiores as variáveis, provavelmente melhor será a qualidade do sêmen.

Segundo TAITSON e GODINHO (2003) há uma grande variação nos dados de concentração espermática em peixes em geral, parecendo ser uma influência espécie-específica, havendo também grandes diferenças individuais, acarretando informações diferenciadas dentro da mesma espécie. Relatos de SCHULZ et al. (2010) o LH é responsável pelo rompimento dos cistos e espermição. Assim é provável que a tendência de aumento de concentração no sêmen de tilápias separadas possa estar relacionada com a ausência de estímulos do sexo oposto no mesmo ambiente influenciando a inibição noturna endócrina. De acordo com SÖNMEZ et al. (2005) sugeriram que o aumento desta pode ser explicado pela estimulação da gametogênese por meios dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH).

As taxas de duração de motilidade encontradas neste estudo, são maiores as encontradas por BOMBARDELLI et al (2010), com taxas de 96% em 46seg. Resultados estes que garantem qualidade do sêmen. Este aumento provavelmente é devido a utilização da

indução hormonal neste trabalho, tendo em vista que outros autores não utilizaram este protocolo, tendo os animais espermiado naturalmente. Autores como PAULINO et al. (2016), verificaram duração de 2,55 minutos para a tilápia. Para motilidade e integridade do sêmen não houve diferenças significativas para o ambiente, indução e dias. Este parâmetro é utilizado para avaliar a qualidade espermática, tendo relação direta com a motilidade espermática (SOUZA 2018).

Quanto a quantidades de células espermáticas normais ou integridade encontrada neste trabalho são bem superiores aos relatados pela literatura. BOMBARDELLI et al. (2010) encontrou 50% de células normais para a espécie, sem que houve indução hormonal. Estes resultados estão dentro dos limites para a utilização em fertilização artificial de peixes. De acordo com MURGAS et al. (2007) a percentagem crítica para a utilização na fertilização é abaixo de 50% de espermatozoides normais, visto que esta técnica envolve uma alta taxa de espermatozoide em condições controladas.

## **5. CONCLUSÕES**

Aos 14 dias, com os animais distribuídos juntos e indução hormonal com hCG foram obtidos os melhores resultados contribuindo para sincronização reprodutiva das fêmeas. Assim como encontrado para os machos, aos 14 dias, os animais distribuídos separadamente foram os que apresentaram os melhores resultados contribuindo para sincronização reprodutiva de tilápias.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; WINNICKI A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 30, n. 1, p. 61-71, 2000.

BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; KORZELECKA-ORKISZ, A.; WINNICKI, A. Fish egg size variability: biological significance. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Fisheries**, v. 4, n. 2, p. 1-15, 2001.

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; NATALI, M.R.M.; SANCHES, E.S.; PIANA, P.A. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.941-949, 2010.

BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 7, p. 387-416, 1997.

CREWS, D. The evolutionary antecedents to love. **Psychoneuroendocrinology**, v. 23, n. 8, p 751-764, 1998.

DE GRAAF, G.J., GALEMONI, F. & HUISMAN, E.A. Reproductive biology of pond-reared Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**30, p. 25–33. 1999.

FELIZARDO, V. O. et al. Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). **Theriogenology**. v.77, p. 1570-1574, 2012.

GODINHO HP. Short-term cold storage of sperm from six Neotropical Characiformes fishes. **Braz Arch Biol Tech**, v.47, p.799-804, 2004.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E. & NISHIDA, S.M. Sneaking behaviour of the Nile tilapia. **Botetim Técnico do CEPTA**,v.11:p. 71-79, 1998.

MATA, E., ROSAS, J., VELÁSQUEZ, A., & CABRERA, T. Inducción hormonal al desove y descripción larval del corocoro *Orthopristis ruber* Cuvier (Pisces:

Haemulidae). **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 39, n. 1 p. 21–29. 2004.

MYLONAS, C.C., FOSTIER, A., & ZANUY, S.. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **Gen. Comp. Endocr.**, v. 165, n.3, p. 516–34. 2010

TAITSON, P.F. and GODINHO, H.P.. Evaluation of fish sperm concentration using two counting chambers. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.**,v. 55, p. 238- 239, 2003

KJORSVIK, E.; MANGOR-JENSEN A.; HOLMEFJORD I. Egg quality in fishes. **Advances in Marine Biology**, v. 26, p. 71-113, 1990.

TSADIK, G.G., BART, A.N.. Effects of feeding, stocking density and water-flow rate on fecundity, spawning frequency and egg quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.).**Aquaculture** v. 272, n. 1, p. 380-388, 2007

PAULINO, M.S.; VERAS, G.C.; FELIZARDO, V.O.; SOLIS-MURGAS, L.D.; FREITAS, R.T.F. Assessment of Gametes in Tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects of Body Weight in a New Lineage. **Journal of Fisheries Sciences**. com, v.10, p.63, 2016.

SLATER, C.H.; SCHRECK, C.B.; AMEND, D.F. GnRH $\alpha$  injection accelerates final maturation and ovulation/spermiation of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* in both fresh and salt water. **Aquaculture**, v. 130, p. 279-285, 1995.

SIDDIQUI, A.Q., AL-HARBI, A.H., Effects of sex ratio, stocking density and age of hybrid tilapia on seed production in concrete tanks in Saudi Arabia. **Aquaculture International** v. 5, n.3, p. 207-216. 1997.

KUBITZA, F., KUBITZA, L. M. M. Tilápias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Parte I. **Panorama da Aquicultura**. n.59, 2000. Disponível em: . Acesso em: 12/07/2018.

SOUZA, U.N.,Felizardo, V.O.,Freita, R.T.F., Melo, C.C.V., Ferreira, M.R., Reis-Neto,R.V. Influence of application time and genetic variability in tilapias *Oreochromis niloticus* submitted to hormonal induction with hCG,Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.vol.68 no.1,Belo Horizonte Jan./Feb.2016.

SOUZA, U.N.,Felizardo, V.O., Freita, R.T.F., Melo, C.C.V., Ferreira, M.R., Reis-Neto,R.V.Efeito de aplicação do hormônio hCG em machos de diferentes variedades de tilápia do nilo *oreochromis niloticus*. **Bol. Ind. Anim. Zootec**.vol.75, n.1, p.1-8, Belo Horizonte Mar.2018.

VIVEIROS, ATM, FESSEHAYE Y, ter Veld M, Schulz RW, Komen, J. Hand-stripping of semen and semen qualityafter maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. **Aquaculture**, v.213, p.373-386, 2002.

VIVEIROS, A.T.M. and GODINHO, H.P. 2009. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiol. Biochem.**, 35: 137-150.

ZANIBONI FILHO, E. POLI, C. R.; POLI, A.T. B.; ANDREATTA, E. R.; BELTRAME, E. Piscicultura de espécies exóticas de água doce. In: (Org). **Aquicultura**, experiências brasileiras. 1. ed. Florianópolis: Multitarefa,,p.456, 2004

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Rev. Bras. Rep. Anim.**, v.31, p.367-373, 2007.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, [s.n.], p.45-73, 2004

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