

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Pesca e Aquicultura
Laboratório de Fisiocologia de Organismos Aquáticos

Tiago Arôxa Veiga

**Inovação na tecnologia de indução hormonal para espermição do tambaqui
(*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818)**

Recife, 8 de Fevereiro de 2019

Tiago Arôxa Veiga

Inovação na tecnologia de indução hormonal para espermição do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818)

Trabalho de conclusão de curso submetido a Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Pesca. Sob Orientação do professor Manlio Ponzi Junior

Recife, 2019

Tiago Arôxa Veiga

Inovação na tecnologia de indução hormonal para espermiação do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818)

Trabalho de conclusão de curso submetido
a Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos necessários para
obtenção do grau de bacharel em
Engenharia de Pesca. Sob Orientação do
professor Manlio Ponzi Junior

Manlio Ponzi Junior
Presidente da Banca- Orientador

Engenheira de Pesca Vivian Graziela Oliveira Carneiro
Membro Titular

Engenheira de Pesca Danielle Alves da Silva
Membro Titular

Engenheiro de Pesca José Filipe da Silva
Membro Suplente

“O tempo é o melhor autor. Sempre encontra um final perfeito.”

- Charles Chaplin

Dedico esse trabalho aos meus Familiares
e amigos que se tornaram alicerces
em minha construção Profissional.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me proporcionar a vida, a saúde, e me dar forças pra lutar.

Minha MÃE, sem ela não chegaria em lugar algum.

Minha irmã, que acompanhou de perto cada passo meu, desde que nasci.

Minha Prima-irmã, Marília, que me dá tanta força, me entende, me ouve e me acolhe.

Minha amiga-irmã-comadre que a vida e a universidade me deram e que é tão relevante pra mim. Exemplo de mãe, profissional e pessoa, Vivian!

Meu pai que contribui para o meu amadurecimento pessoal, todos os dias, mesmo distante.

Minha família Tia Rila, Tia Lane, Tia Rida, que tem um papel importantíssimo na minha vida.

Minha avó materna Luiza, que despeja tanto amor e carinho sobre mim.

Meus avós paternos Rosilda e Isaac, que tanto amo!

Aos professores desta Universidade, que além de formadores de profissionais, são formadores de pessoas, e cumprem seu papel arduamente para atingir a todos de forma positiva.

E a todos que de alguma forma estiveram presentes em minha vida contribuindo para meu crescimento profissional e pessoal.

Lista de Imagens

Imagem 1: Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	9
Imagem 2: Acetato de Deslorelina.....	10
Imagem 3: Aplicação de hormônio.....	12
Imagem 4: Coleta de semên.....	12
Imagem 5: Análise do índice de Fecundação.....	12
Imagem 6: Análise em Software CASA.....	13

Lista de Tabelas

Tabela1: Resultados da Fase 1(0,05ml).....	14
Tabela 2: Resultado da Fase 2 (0,05 ml).....	14
Tabela 3: Resultado da Fase 2 (0,025 ml).....	14

Sumário

Introdução.....	9
Materiais e Metodos.....	10
Resultados e discussão.....	13
Conclusão.....	14
Bibliografia.....	15

Introdução

A aquicultura atualmente é o setor da produção animal que mais cresce no mundo, objetivando atender as necessidades de proteína exigidas pelo homem (FAO, 2012). Entre as suas principais vertentes, a piscicultura se destaca como atividade econômica rentável. Além disso, se for utilizadas técnicas adequadas de manejo pode contribuir para a preservação das espécies no ambiente natural (GARUTTI, 2003). A produção da aquicultura brasileira, que é composta principalmente de tilápias (*Oreochromis sp.*), camarão (*Litopenaeus vannamei*) e algumas espécies nativas (*Colossoma macropomum* e seus híbridos), é a segunda maior da América do Sul. O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie da região norte do Brasil, e tem papel relevante para a alimentação da população local. Possui hábito alimentar onívoro e realiza migrações reprodutivas. Devido suas características zootécnicas a produção em cativeiro vem crescendo consideravelmente na produção aquícola brasileira. O tambaqui (Imagem 1) é uma das espécies mais representativas na produção de peixes no Brasil, das 302.235 toneladas de peixes nativos produzidos no país, 43,7% corresponde à produção do tambaqui, O crescimento da produtividade de tambaqui, exigirá maior tecnificação e melhor organização do setor. Por ser um peixe que não se reproduz em cativeiro, vários tipos de hormônios têm sido empregados na reprodução induzida da espécie.



Figura 1: Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

A primeira geração de indutores foram os extratos brutos de hipófise, seguidos pelos hormônios sintéticos, dentre eles os hormônios liberadores da gonadotrofina. GnRH's tais como os decapeptídeos têm sido empregados na espermiacção do tambaqui e embora hormônios nonapeptídeos hiperativos tenham sido testados na indução da ovulação em

fêmeas de tambaqui, pouco se conhece sobre o uso desses hormônios em machos induzidos à espermiacção. O Acetato de Deslorelina (imagem 2) é um GnRH nonapeptídeo usado na ovulação induzida de éguas. Além de ser considerado um hormônio hiperativo, encontra-se também bastante concentrado em sua apresentação, o que favorece o emprego de menores volumes do hormônio em comparação com os hormônios decapeptídeos. Uma vez que esses gargalos tecnológicos sejam solucionados o tambaqui poderá expressar todo seu potencial zootécnico e econômico, o que proporcionará aumento expressivo da produção e maior popularização do seu consumo dentro e fora do Brasil, segundo a revista ativos aquicultura de 2016. Objetivou-se averiguar o efeito do Acetato de Deslorelina na epermiacção do tambaqui.



Imagem 2: Acetato de Deslorelina

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na base de piscicultura Johei koike, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Departamento de Pesca e Aquicultura, em duas fases. A primeira fase em 23 de Julho de 2018 foram selecionadas matrizes de tambaqui com auxílio de uma rede de arrasto de 15 metros de comprimento, pesados com uma balança digital de guincho, marcados e isolados em tanques de concreto. Para manipulação dos animais utilizou-se banhos anestésicos com eugenol na proporção de 1:100 ml (Eugenol:água) em

uma caixa d'água de pvc de 500 litros, para garantir que estivessem devidamente anestesiados antes da aplicação do hormônio, esperava-se que o animal apresentasse características de um animal moribundo, deitado sob o fundo da caixa.

Dois machos maduros foram induzidos a espermição com o Acetato de Deslorelina, na quantidade de 0,05 mL do líquido hormonal, à concentração de 12,5 µg/peixe, em dose única, via intra-celomática através de uma seringa de 1ml (Imagem 3). O peso médio dos peixes foi de 7,9 Kg. Duas fêmeas foram induzidas à desova por meio de hipofiseção. A segunda fase ocorreu no dia 12 de Dezembro de 2018, onde outras matrizes foram selecionadas, pesadas, marcadas e colocadas nos tanques de isolamento, as temperaturas também foram aferidas com auxílio de um termômetro e todos os animais submetidos a banhos anestésicos com eugenol para devida manipulação sem maiores prejuízos ao animal. Nesta fase 4 machos foram selecionados onde 2 eram submetidos a 0,05 ml do líquido hormonal e os outros 2 submetidos a uma dosagem menor de 0,025 ml. O peso médio dos machos foi de 7,1 kg e 7,3 kg respectivamente. Também foram selecionadas fêmeas induzidas a desova por meio de hipofiseção. Em ambas as fases após a aplicação dos hormônios foram colocados 2 machos e 2 fêmeas juntos em cada tanque de isolamento, a temperatura era aferida de hora em hora e após identificar sinais de cortejo entre os casais deduzindo assim a desova, as fêmeas eram retiradas para extrusão de óvulos por meio de massagem abdominal cefalo-caudal e os machos retirados para extração do sêmen também por meio de massagem abdominal. O sêmen foi coletado diretamente da abertura genital com uma seringa de 10 mL (Imagem 4), até a exaustão, para mensurar a quantidade liberada por cada reprodutor, o volume foi medido com o auxílio de um tubo de ensaio volumétrico de 20 ml. A fecundação artificial foi feita com auxílio de uma bacia onde os gametas da fêmea e do macho foram misturados. Os óvulos fecundados foram distribuídos equitativamente com 150g em cada incubadora em três incubadoras tipos funil com a capacidade de 250 m³. Os índices de fecundação foram registrados após 6 e 17 horas, em duas alíquotas de cada incubadora, a análise foi feita com auxílio de uma placa de petri e uma lupa (Imagem 5).



imagem 3: Aplicação do Hormonio



Imagem 4: Coleta de Sêmen



Imagem 5: Análise do índice de Fecundação

Para avaliação quantitativa e qualitativa, o sêmen correspondente aos reprodutores foi levado ao laboratório de reprodução animal do departamento de Veterinária da UFRPE para análise a partir do sistema CASA em software SCA da Microptic (Imagem 6), a avaliação de motilidade e vigor espermático foi realizada com apenas uma amostra viável de sêmen de cada fase, na qual em uma lamina de microscopia foi colocado 0,01 ml da amostra de sêmen e ativada com a mesma água do tanque de isolamento na proporção 1:20 (sêmen:água). O vigor espermático foi avaliado subjetivamente de acordo com a robustez de movimentação celular, atribuindo-se um escore de zero a cinco, em função da velocidade e progressão de

movimento dos espermatozoides, de modo que, quando todos os espermatozoides se apresentam imóveis, atribui-se o vigor de zero, ao passo que, quando os espermatozoides apresentavam rápida movimentação e progressão contínua, atribui-se o vigor de cinco.

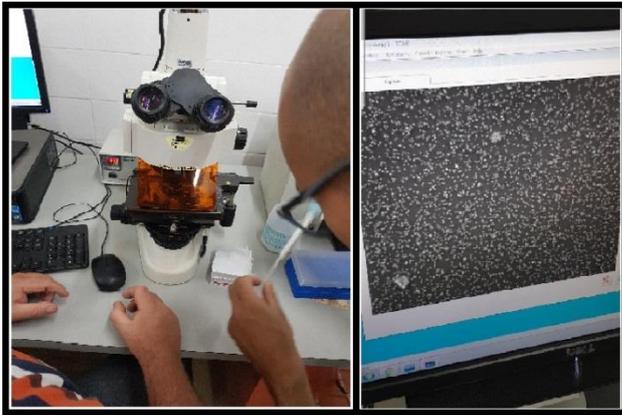


Imagem 6: Avaliação do semen através do Software CASA

O tempo de vida foi calculado através de um cronômetro disparado no momento da ativação dos espermatozoides e parado quando o último espermatozoide no campo de visão ficou totalmente inerte. A coloração do sêmen foi avaliada em uma escala de zero a cinco, onde cinco é branca e zero é transparente. A integridade dos espermatozoides foi avaliada a partir do uso de corantes de diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio com microscópio binocular específico (J.E.Aurich et al).

Resultados e discussão

Como resultados, apresentados nas tabelas abaixo, a motilidade dos espermatozoides foi considerada alta, com uma integralidade de 90%, em ambas as fases, conforme a leitura óptica através do software CASA. O vigor espermático foi observado numa escala entre 4 e 5, sendo um ótimo parâmetro para a boa qualidade dos espermatozoides. Assim como a coloração do sêmen obedeceu um padrão branco leitoso, o que sugere um sêmen saudável. O tempo de vida dos espermatozoides compreendeu entre 70 e 80 segundos, tempo suficiente para o sucesso da fecundação. Nos dois machos da primeira fase obteve-se 8,5 e 9 mL de sêmen, e nos dois machos da segunda fase 9 e 10 ml, ambos induzidos com 0,05ml de líquido hormonal. Já os dois machos induzidos com 0,025 ml de hormônio não espermiaram.

Os índices de fecundação, foram em média 80% e 95% após 6 e 17 horas de fecundados, para todos os machos.

	Macho 1	Macho 2
Volume (ml)	8,5	9
Motilidade	90%	x
Vigor	4	x
Tempo de Vida (s)	70	x
Coloração	5	4

Tabela 1: Resultados da Fase 1 Referente a indução hormonal com 0.05 de acetato de deslorelina

	Macho 1	Macho 2
Volume (ml)	9	10
Motilidade	90%	x
Vigor	5	x
Tempo de Vida (s)	70	x
Coloração	5	5

Tabela 2: Resultados da Fase 2 Referente a hormonal com 0,05ml de Acetato de deslorelina.

	Macho 1	Macho 2
Volume (ml)	x	x
Motilidade	x	x
Vigor	x	x
Tempo de Vida (s)	x	x
Coloração	x	x

Tabela 3: Resultados da Fase 2 referente a indução hormonal com 0,025 de Acetato de Deslorelina

Conclusão

Estes dados apontam para uma utilização promissora do Acetato de Deslorelina na espermição induzida do tambaqui quando ministrado 0,05 mL do líquido hormonal, à concentração de 12,5 µg/peixe, em dose única.

Bibliografia

- FAO 2012 - THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE
- V Garutti 2003 – Piscicultura Ecologica
- Ativos da Aquicultura - ano 2 - 7 edição – Janeiro de 2016
- J.E.Aurich¹A.Kühne¹H.Hoppe³C.Aurich² - Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation
- *Monique Albuquerque Lagares, Luciana Silva Meirelles, Vera Beatriz Wald, Ricardo Macedo Gregory, Rodrigo Costa Mattos* - Efeito de diferentes diluidores sobre a membrana plasmática do espermatozóide eqüino e fertilidade do sêmen resfriado.
- J.M.VazquezE.A.MartinezP.MartinezC.Garcia-ArtigaJ.Roca
- Alexandre Nizio Maria ^(a1), Hymerson Costa Azevedo ^(a1), Jadson Pinheiro Santos ^(a1) and Paulo César Falanghe Carneiro ^(a2) - Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*
- Dayane Regina Lenz¹, André de Moura Victório^{1,2*}, Mayanny Carla Carvalho Lima³, Tayrone Freitas Prado³, Fernanda Gomes de Paula³, Maria Lucia Gambarini Meirinhos³ & Emmanuel Arnhold³ - Caracterização do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante período reprodutivo