

REPRODUÇÃO INDUZIDA DO PAPA-TERRA *MENTICIRRHUS AMERICANUS* (PISCES: SCIAENIDAE) UTILIZANDO hCG

CINTIA LABUSSIÈRE NAKAYAMA¹, LUÍS ANDRÉ SAMPAIO¹ E RICARDO BERTEAUX ROBALDO²

¹Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha, CP 474, CEP 96201-900 – Rio Grande – Brasil

²Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, CP 354, CEP 96001-970 – Pelotas – Brasil

RESUMO

O papa-terra, *Menticirrhus americanus* está distribuído ao longo da costa oeste do Oceano Atlântico. Assim como outros Sciaenidae, o papa-terra vem sendo considerado como uma espécie com potencial para a piscicultura marinha e estuarina. Como parte do sucesso da criação é a reprodução, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de reproduzir *M. americanus* em cativeiro utilizando hCG. As fêmeas foram induzidas com uma dose de 300 UI hCG.kg⁻¹. Foi obtido sucesso em 60% das fêmeas induzidas. O período de latência foi de 38,1 ± 3,4h, os ovos mediram 730 ± 0,06 µm de diâmetro, com taxas de segmentação e eclosão de 63,8 ± 14,5% e 43,3 ± 10,7%, respectivamente. A fertilidade foi estimada em 137.291 ± 136.949 ovos.kg⁻¹. Os resultados demonstram que as fêmeas de papa-terra são sensíveis ao hCG e que é possível obter larvas viáveis a partir de fertilização artificial.

PALAVRAS CHAVE: maturação final, larva e hormônio

ABSTRACT

Induced reproduction in Southern kingfish *Menticirrhus americanus* (Pisces: Sciaenidae) using hCG

The Southern kingfish *Menticirrhus americanus* is distributed along of Atlantic West Coast. Such as others Sciaenidae the Southern kingfish has been considered potential to marine and estuarine fish culture. Part of successful in captivity is reproduction, and then the study aimed evaluates the *M. americanus* reproduction in captivity using hCG. The females were induced with 300 IU hCG.kg⁻¹ BW. The spawning successful was obtained in 60% induced. The latency period was 38.1 ± 3.4h, the eggs diameter was 730 ± 0.06 µm, segmentation and hatching rate were 63.8 ± 14.5% e 43.3 ± 10.7%, respectively. The fertility was estimated in 137,291 ± 136,949 ovos.kg⁻¹. The results showed the Southern kingfish is sensitive to hCG and it is possible to obtain viable larvae through artificial reproduction.

KEYWORDS: final maturation, larva and hormone

INTRODUÇÃO

A piscicultura marinha ainda é bastante incipiente no Brasil, mas algumas espécies vêm sendo consideradas como aptas para criação como o peixe-rei (Sampaio, 2006), o linguado (Sampaio *et al.* 2008), o robalo (Cerqueira & Tsuzuki, 2009) e o bijupirá (Sampaio *et al.* 2011).

O papa-terra *Menticirrhus americanus* é distribuído ao longo da costa oeste do Oceano Atlântico, desde a Argentina até o os Estados Unidos (Menezes & Figueiredo 1980). Essa espécie é apreciada no litoral sul do Brasil para a prática da pesca esportiva e pelo sabor e qualidade da sua carne. Assim como outros Scianidae, como o red drum *Sciaenops ocellatus* (Holt *et al.* 1990) e a corvina *Micropogonias undulatus* (Creswell *et al.* 2007), espécies criadas com sucesso em outros países, o papa-terra vem sendo considerado para a aquicultura. O fato de ser uma espécie eurialina é outra característica importante para o desenvolvimento da piscicultura estuarina (Miranda *et al.* 2008).

Um dos pilares para a viabilidade e sustentabilidade da aquicultura é o fechamento do ciclo de vida da espécie em cativeiro. Domesticação,

seleção e melhoramento genético das espécies criadas em cativeiro dependem diretamente do controle da reprodução (Donaldson 1996).

Devido as dificuldades impostas pelo confinamento à reprodução, o controle de fatores abióticos e a manipulação de hormônios exógenos como a gonadotrofina coriônica humana (hCG), extrato hipofisário de carpa e hormônio liberador de gonadotrofinas, são alternativas que vem sendo aplicadas com sucesso na tentativa de contornar os problemas de maturação final dos ovócitos, ovulação e desova em cativeiro (Zohar & Mylonas 2001).

Os hormônios exógenos podem ser aplicados por injeção intramuscular ou intraperitoneal, ou ainda na forma de peletes. São administrados em dose única, parcelada ou conjuntamente a inibidores dopaminérgicos (Weber *et al.* 2000; Shein *et al.* 2004; Aizen *et al.* 2005).

Alguns estudos com outros Scianidae, como *Micropogonias undulatus*, *M. furnieri* e *Sciaenopsis ocellatus* apresentaram sucesso na reprodução em cativeiro utilizando hCG (Gwo *et al.* 1993; Lee 1997; García-Alonso & Vizziano 2004). Dessa forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reprodução de *M. americanus* por meio do emprego

de hCG na indução da maturação final dos gametas e desova dessa espécie em cativeiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os reprodutores foram capturados na Praia do Cassino, Rio Grande, Brasil (32°12'05"S - 52°10,05"W) com linha e anzol e transportados imediatamente para o Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha da Universidade Federal do Rio Grande.

A separação de machos e fêmeas foi realizada por massagem abdominal para verificação da extrusão de sêmen. Na ausência de gametas masculinos após a tentativa de extrusão, foi realizada biopsia da gônada por punção através do poro urogenital com cânula flexível (650 µm diâmetro interno). As amostras de ovócitos para biopsia foram mantidas em solução fisiológica (NaCl 0,9%). O diâmetro dos maiores folículos (camadas envoltórias + ovócito) de cada fêmea foi medido em estereomicroscópio (n=10 folículos por fêmea). Apenas as fêmeas com folículos de diâmetros 385 µm foram induzidas (García-Alonso & Vizziano 2004). A média do diâmetro dos folículos para indução foi de $431 \pm 0,05\mu\text{m}$.

Cinco fêmeas de *Menticirrhus americanus* com peso de $331,2 \pm 83,6\text{g}$ e comprimento total de $31,2 \pm 3\text{cm}$ foram utilizadas nesse experimento. As fêmeas foram induzidas uma única vez, com injeção intramuscular na dose de $300\text{ UI hCG.kg}^{-1}$. Após a indução as fêmeas foram mantidas em tanques individuais de 140 L, a 23°C e aeração suave, em uma sala climatizada sob fotoperíodo de 14h de luz e 10h de escuro. Os machos não foram induzidos, pois sob leve massagem abdominal se apresentavam espermiantes. Todo o procedimento de manipulação dos reprodutores foi realizado com os animais anestesiados em banho de benzocaína (50 ppm).

Para compor a avaliação do desempenho reprodutivo foi considerado o período de latência, taxa de segmentação, taxa de eclosão e fertilidade estimada. O período de latência correspondeu ao período entre a indução e a coleta dos ovócitos. Após 24h da indução foi feita a primeira avaliação morfológica nas fêmeas. Verificando-se inchaço da região abdominal, dilatação e intumescimento da papila genital. Não apresentado essas condições, as fêmeas foram observadas em intervalos de 6hs. O

momento ideal para extrusão dos ovócitos foi considerado quando o abdômen se encontrava distendido, macio e a papila genital intumescida. Para a coleta dos gametas a região urogenital foi previamente limpa e seca com papel absorvente, evitando contaminação com urina e fezes.

Os gametas dos machos foram coletados antes dos gametas das fêmeas, para realização da fertilização a seco. O sêmen foi coletado com seringa de 1 mL e os ovócitos em um recipiente seco (200 mL). Para verificar a motilidade dos espermatozóides, uma amostra de sêmen foi ativada com água marinha e analisada em microscópio óptico. Confirmada a qualidade do sêmen, os espermatozóides foram ativados com água do mar na própria seringa da coleta e gotejados sobre os ovócitos. Os gametas foram gentilmente homogeneizados e deixados em repouso por 10min antes da lavagem para retirada do excesso de sêmen e do fluido ovariano. Em seguida foi verificada a flutuabilidade dos ovos e a taxa de segmentação. A flutuabilidade foi avaliada em proveta graduada com água do mar (30‰), verificando-se a proporção entre o volume de ovos supostamente viáveis (flutuantes) e os inviáveis (precipitados). Para avaliação da taxa de segmentação uma amostra de ovos foi coletada 40min após a fertilização, quando se encontram no estágio de 2 ou 4 células (23°C). Dessa mesma amostra foi realizada a medida do diâmetro dos ovos (n=20). A relação do número de ovos por mL foi estimada a partir da contagem de amostras de 0,5mL de ovos de três fêmeas. A taxa de eclosão foi calculada a partir de amostras com aproximadamente 100 ovos retirados de cada desova e incubadas a 23°C. Após 30h as larvas (n=10) recém eclodidas, de cada amostra de desova, foram quantificadas e medidas.

RESULTADOS

O período médio de latência foi de $38,1 \pm 3,4\text{h}$ ($876,3 \pm 78,2$ horas grau) e o diâmetro médio dos folículos ovocitários utilizados para a indução foi de $431,8 \pm 0,04\mu\text{m}$. Os ovos de papa-terra (Figura 1. A e B) são esféricos, transparentes, flutuantes e apresentam diâmetro médio de $730 \pm 0,05\mu\text{m}$. As taxas de segmentação e eclosão foram $63,8 \pm 14,5\%$ e $43,3 \pm 10,7\%$, respectivamente. A quantidade de ovos por

volume de desova foi estimada em 1.690 ± 372 ovos.mL⁻¹. A fertilidade foi estimada em 137.291 ± 136.949 ovos.kg⁻¹. O método de indução empregado

apresentou sucesso na maturação final e desova em 60% das tentativas. O comprimento total das larvas recém eclodidas foi de $2,2 \pm 0,2$ mm (Figura 1 C).

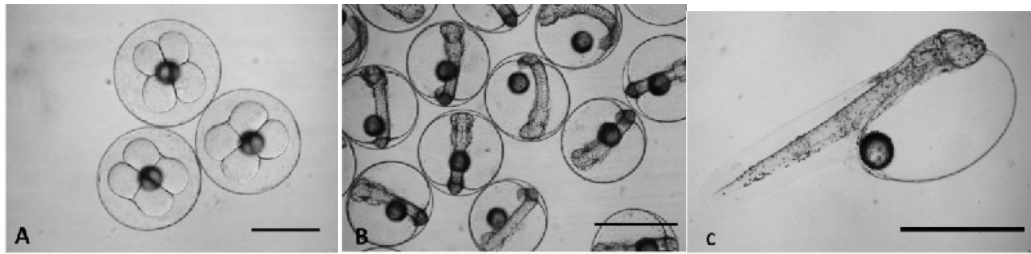


FIGURA 1 – Estágios embrionários e larva recém eclodida de papa-terra *Menticirrhus americanus*, produzidos sob indução com hCG (300 UI/Kg). A – Início da segmentação em 4 células, 45min após fertilização (barra = 470 µm), B – Embrião em estágio de nêurula, 22h após fertilização (barra = 730µm) e C – Larva recém eclodida

DISCUSSÃO

O procedimento de indução hormonal é importante para a produção em escala comercial, pois acelera o processo de maturação dos ovócitos e sincroniza as desovas. Para as espécies que possuem baixa fertilidade (número de ovos produzido por fêmeas) a indução permite que a partir da sincronia das desovas se inicie uma produção comercial de larvas.

No presente trabalho a indução resultou em um período de latência semelhante ao descrito para outros Sciaenidae, onde foi constatada uma variação entre 24-30h a 25°C (600-750 horas grau) e 48h a 20°C (960 horas grau) para *M. furnieri* (300-500 UI hCG.kg⁻¹) e *S. ocellatus* (500-600 UI hCG.kg⁻¹), respectivamente (García-Alonso & Vizziano 2004; Colura 1990). O diâmetro mínimo dos folículos das fêmeas utilizadas para a indução no presente trabalho foi baseado no tamanho mínimo sugerido por García-Alonso & Vizziano (2004) para a indução de *M. furnieri*. Outros trabalhos com Sciaenidae mostraram diferentes valores mínimos de ovócitos para a indução a desova. Como por exemplo, *S. ocellatus*, *Cynoscion nebulosus* e *Cynoscion xanthurus*, com diâmetro mínimo de 600, 400 e 440 µm, respectivamente (Cabrita *et al.* 2008). Neste estudo, os resultados obtidos, mostram que *M. americanus* pode ser induzido a desova com diâmetro mínimo de ovócitos por volta de 430 µm. A utilização dessa classe de diâmetro de ovócitos proporcionou resposta à desova de 60% das fêmeas induzidas com hCG e ovos fertilizados com valores de diâmetro médio um pouco inferior ao descrito por Colura (1990) para *S.*

ocellatus que é de aproximadamente 1.000 µm, mas com valores próximos aos descritos para *Menticirrhus saxatilis*, 760-900µm (Welsh & Breder 1923). Os ovos de *M. americanus* apresentam apenas uma gota de óleo.

O tratamento hormonal (hCG) em *S. ocellatus* resultou numa produção de 90.900 a 214.000 ovos.kg⁻¹ (Colura 1990). Estes valores mostram que a produção estimada em *M. americanus* ocupa uma posição intermediária em relação a *S. ocellatus*.

A taxa de segmentação em *Micropogonias undulatus* induzidas a desova (500 UI hCG.kg⁻¹) foi de 50% (Gwo *et al.* 1993) e para *M. americanus* alcançou 63%. Comparando-se os dados de segmentação apresentados, nas diferentes espécies, *M. americanus* demonstrou um resultado superior aquele encontrado para *M. undulatus*. Alguns estudos com reprodução de Sciaenidae (*S. ocellatus*, *Umbrina cirrosa* e *M. undulatus*) apresentam resultados variados das taxas de eclosão, entre 12 e 42% (Sink *et al.* 2010; Gardes *et al.* 2000; Mylonas *et al.* 2004). Esses valores são semelhantes aos encontrados no presente trabalho para a taxa de eclosão média de 43% para *M. americanus*. O comprimento médio das larvas de *M. americanus* produzidas nos ensaios foi semelhante ao descrito para a espécie de mesmo gênero, *M. saxatilis* 2 -2,5mm (Welsh & Breder 1923).

Esse estudo foi pioneiro na reprodução de *M. americanus* em cativeiro. Os resultados do trabalho mostraram que o hCG (300 UI hCG.kg⁻¹) pode ser utilizado com sucesso para a indução da maturação final dos ovócitos de papa-terra, permitindo a produção de ovos fertilizados e larvas.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a Cintia Labussière Nakayama e ao CNPq pela concessão das bolsas de produtividade aos pesquisadores Ricardo Berteaux Robaldo (processo n°312035/2009-8) e Luis André Sampaio (processo n° 308013/2009-3).

REFERÊNCIAS

- AIZEN J, I MEIRI, I TZCHORI, B LEVAVI-SIVAN & H ROSENFELD. 2005. Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *Gen. Comp. Endocr.* 142: 212-221.
- CABRITA, E, V ROBLES, P HERRAEZ. 2008. Methods in reproductive aquaculture: Marine and freshwater species. CRC Press. (Taylor and Francis Group) 547p.
- CERQUEIRA, VR, TSUZUKI, MY. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiol. Biochem.* 35:17-28.
- COLURA RL. 1990. Hormone induced strip-spawning of red drum. *In: Red drum Aquaculture. Proceedings of a Symposium on the culture of red drum and others warm water fishes 1987. Texas A & M University Sea Grant College Program TAMU-56: 33-34.*
- CRESWELL RL, CL OHS & CL MILLER. 2007. Candidate species for Florida aquaculture: Atlantic croaker *Micropogonias undulatus*. University of Florida Institute of Food and Agriculture Sciences. Fact Sheet FA 148 1-5.
- DONALDSON E. 1996. Manipulation of reproduction in farmed fish. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 381-392.
- GARCÍA-ALONSO J & D VIZZIANO. 2004. Induction of oocyte maturation in the white croaker *Micropogonias furnieri* (Pisces: Sciaenidae) by human chorionic gonadotropin. *Braz. J. Biol.* 64 (1): 73-80.
- GARDES L, P VILLANOVE, V BUCHET & C FAUVEL. 2000. Induced spawning of red drum *Sciaenops ocellatus*: use of multivariate and univariate analysis methods in the search for side effects of LH-RHa. *Aquat. Living Resour.* 13 (1): 19-27.
- GWO JC, K STRAWN, CR ARNOLD. 1993. Induced ovulation in Atlantic croaker (Sciaenidae) using hCG and an LHRH analog: A preliminary study. *Theriogenology* 39 (2): 353-361.
- HOLT GJ, CR ARNOLD & CM RILEY. 1990. Intensive culture of larval and post larval red drum. *In: Red drum Aquaculture. Proceedings of a Symposium on the culture of red drum and others warm water fishes 1987. Texas A & M University Sea Grant College Program TAMU-56: 53-56.*
- LEE C. 1997. Marine finfish hatchery technology in the USA – status and future. *Hydrobiologica* 358: 45-54.
- MENEZES N & J FIGUEIREDO. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV Teleostei (3). São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo 96p.
- MIRANDA FILHO, K, R ROBALDO & W WASIELESKY. 2004. Tolerância de juvenis do papa-terra *Menticirrhus littoralis* (Holbrook, 1860) (Pisces:Sciaenidae) a baixas salinidades. *Atlântica* 30(2): 101-106.
- MYLONAS C, Y KYRIAKOU, I SIGELAKI, G GEORGIU, D STEPHANOY & P DIVANACH. 2004. Reproductive biology of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in captivity and induction of spawning using GnRH α . *Isr. J. Aquacult.* 56(2): 75-92.
- SAMPAIO LA. 2006. Production of “pejerrey” *Odontesthes argentinensis* fingerlings: A review of current techniques. *Biocell* 30: 121-123.
- SAMPAIO LA, RB ROBALDO & A BIANCHINI. 2008. Hormone-induced ovulation, natural spawning and larviculture of Brazil flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Aquac. Res.* 39: 712-717.
- SAMPAIO, L.A., MOREIRA, C.B., MIRANDA-FILHO, K.C., ROMBENSO, A.N. 2011. Culture of cobia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. *Aquac. Res.* 42: 832-834.
- SHEIN N, H CHUDA, T ARAKAWA, K MIZUNO & K SOYANO. 2004. Ovarian development and final oocyte maturation in cultured sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fisheries Sc.* 70(3): 360-365.
- SINK T, RJ STRANGE & RT LOCHMANN. 2010. Hatchery methods and natural, hormone-implant-induced, and synchronized spawning of captive Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) Linnaeus 1766. *Aquaculture* 307 (1): 35-43.
- WEBER GM, WV KING, RW CLARK, RG HODSON, CV SULLIVAN. 2000. Morpho-physiological predictors of ovulatory success in captive striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture* 188: 133-146.
- WELSH WW & CM BREDER. 1923. Contributions to life histories of Sciaenidae of the Eastern United States coast. *Fish.B- NOAA* 39: 141 – 201.
- ZOHAR Y. & C MYLONAS. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197: 99-136.

Submetido – 21/10/2011

Aceito – 15/02/2012