



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO DE PESCA

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

PPG-CIPET

ALFREDO BORIE MOJICA

**“ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *PLAGIOSCION*
SQUAMOSISSIMUS (TELEOSTEI, SCIAENIDAE) MANTIDOS EM
TANQUE REDE NA COMUNIDADE DO LAGO DO CATALÃO,
AMAZÔNIA CENTRAL”**

MANAUS, AM

Agosto, 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO DE PESCA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS
PPG-CIPET

ALFREDO BORIE MOJICA

**“ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *PLAGIOSCION*
SQUAMOSISSIMUS (TELEOSTEI, SCIAENIDAE) MANTIDOS EM
TANQUE REDE NA COMUNIDADE DO LAGO DO CATALÃO,
AMAZÔNIA CENTRAL”**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras
nos Trópicos – PPG-CIPET da
Universidade Federal do Amazonas, para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Pesqueiras nos Trópicos**

ORIENTADOR: NING LABBISH CHAO, PHD

MANAUS, AM

Agosto, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Borie, Alfredo L., 2012

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *PLAGIOSCION SQUAMOSISSIMUS* (TELEOSTEI, SCIAENIDAE) MANTIDOS EM TANQUE REDE NA COMUNIDADE DO LAGO DO CATALÃO, AMAZÔNIA CENTRAL. UFAM – 2012

53 p

Dissertação de Mestrado

1. Tanque-rede, 2. Reprodução induzida, 3. Sons

SINOPSE

Em 2009 foi realizado o primeiro estudo sobre a reprodução induzida da pescada-branca criada em tanque-rede, com a finalidade de contribuir para a elaboração de um pacote tecnológico para o cultivo desta espécie, onde foram avaliados indutores hormonais sintéticos e os sons produzidos pelos machos, para ser utilizado como critério no momento de selecionar machos maduros aptos para o processo de reprodução.

Palavras Chaves: Hormônios sintéticos, Reprodução, Músculo sonoro.

*“Não é o mais forte que sobrevive,
nem o mais inteligente, mas o que
melhor se adapta às mudanças”.*

(Charles Darwin)

AGRADECIMENTOS

- A minha família pelo carinho e apoio entregue em todo momento, principalmente a minha amada Marcileide pelo imenso companheirismo, carinho, apoio e paciência durante os bons e maus momentos, e a Malu Bedoo pelos momentos de distração durante as horas de aperreio.
- Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa de estudos concedida para a minha manutenção e melhor desenvolvimento do projeto, o que foi de grandíssima ajuda.
- Ao Professor Ning Labbish Chao, pelo apoio, orientações sábias e altamente relevantes, conhecimentos entregues sobre a ampla área da ictiologia, também pela amizade, confiança e pelas conversas sobre a vida e a gelada sagrada das sextas-feiras.
- Aos colegas do laboratório de ictiologia Joely-Anna, Fabrício, Aline e principalmente ao meu estimado amigo e colega Batalha pela força durante todo o processo. Aos amigos Barreirinha, Jairo e Lorenzo, obrigado pela ajuda.
- A coordenação e todos os professores do curso de Pós-graduação Ciências Pesqueiras nos Trópicos por todos os ensinamentos entregues e que me ajudaram de sobremaneira na minha formação acadêmica.
- A professora Inês Braga pela ajuda e orientação nas análises histológicas, ao professor Robaldo pelas informações sobre a reprodução induzida, e principalmente ao professor Hinkiu Mok (Mike) pela imensa ajuda, orientação e colaboração a distância e que foi de suma importância nas análises bioacústicas.
- A todos os alunos que estiveram colaborando direta ou indiretamente com o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigado.

RESUMO

Plagioscion squamosissimus quando criada em tanque-rede não completa a maturação final dos ovócitos, tendo que ser induzida para que o processo aconteça. Os indutores reprodutivos utilizados foram o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH - Ovaprim[®]) e gonadotrofina coriônica humana (hCG). Nas fêmeas, foi observado que os glóbulos de vitelo e gotículas de óleo presentes nos ovócitos estavam em processo de fusão final após 12 horas da indução utilizando 1.4 ml de ovaprim/Kg de peso vivo. Com 300 UI de hCG/kg foi observado o início da fusão às 12 h. Os machos não apresentaram as gônadas completamente desenvolvidas em ambos os experimentos e não houve diferença significativa entre os tratamentos. As gônadas dos machos se desenvolvem em sincronia com o músculo sonoro e a pescada-branca produz sons mais longos quando madura. Os sons ou “chamados” podem indicar o estado de maturação dos machos, no habitat natural ocorreu no período da seca, onde foram detectados “chamados” de maior duração ($0,404 \pm 0,191$ seg.), por tanto, maior número de pulsos ($20,7 \pm 9,7$ pulsos/chamado), quando comparado com ao período da cheia ($0,152 \pm 0,056$ seg. e $8,4 \pm 0,8$ pulsos/chamado respectivamente). Os sons gravados dentro do tanque rede durante a seca tiveram menor duração que os sons captados no habitat natural no mesmo período, indicando que os indivíduos no tanque-rede se encontram em processo de maturação. Os métodos de canulação utilizado nas fêmeas e a bioacústica nos machos foram eficientes para avaliar a maturação da pescada-branca. O método acústico passivo permite inferir sobre o período e local de desova desta espécie e quando esta pronta para a desova.

ABSTRACT

Plagioscion squamosissimus kept in cages did not complete the final maturation of oocytes, having to be induced to make the process happen. The reproductive inducers used were gonadotropin-releasing hormone (GnRH - Ovaprim[®]) and human chorionic gonadotropin (hCG). In females, it was observed that the yolk globules and oil droplets were present in the oocytes fusion process end after 12 hours of induction using 1.4 ml/kg body weight of Ovaprim[®]. With 300 IU of hCG/kg was observed the onset of melting at 12 h. The males didn't show fully developed gonads in both experiments, and no significant difference between treatments was found. The gonads of males develop in sync with the sonic muscle and *P. squamosissimus* produces longer sounds when is ripe. The sounds or "calls" may indicate the state of maturity of males in the natural habitat that occurred during the dry season, which were detected "calls" of longer duration (0.404 ± 0.191 sec.). Therefore, major number of pulses (20.7 ± 9.7 pulses/call) than flood season (0.152 ± 0.056 sec. and 8.4 ± 0.8 pulses/called respectively). The sounds recorded in cages during the dry season had shorter duration than the sounds captured in the wild, perhaps indicating that individuals in cages are in a maturation process. The methods of cannulation used in females and the bioacoustics of males were effective for assessing the maturity of freshwater white Croaker. The passive acoustic method allows predict the time and place of spawning of this species and when males are ready to spawn.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	17
3. MATERIAL & MÉTODOS.....	17
3.1 Local do estudo.....	17
3.2 Avaliação da reprodução induzida de <i>P. squamosissimus</i>	18
3.2.1 Manejo e seleção de matrizes.....	18
3.2.2 Hormônios indutores e estocagem após-indução.....	19
3.2.3 Índice gonadossomático (IGS).....	20
3.2.4 Análises histológica das gônadas.....	20
3.3 Avaliação dos sons emitidos pelos machos de <i>P. squamosissimus</i>	20
3.3.1 Sons e maturação sexual de machos de pescada-branca.....	20
3.3.2 Metodo de gravação.....	20
3.3.3 Período e locais de gravação.....	21
3.3.4 Análises dos sons.....	21
3.4 Monitoramento das variáveis físicas e químicas da água nos tanques-rede....	22
3.5 Análises estatística.....	22
4. RESULTADOS.....	22
4.1 Reprodução Induzida.....	22
4.1.1 Manejo e seleção de exemplares maduros.....	22
4.1.2 Análises do índice gonadossomático (IGS).....	23
4.1.3 Análises histológica das gônadas.....	24
4.2 Sons dos machos.....	25
4.2.1 Sons e maturação sexual.....	25
4.2.2 Sons no ambiente natural.....	25
4.2.3 Sons no tanque-rede (TR).....	27
4.2.4 Sons de perturbação.....	27
4.3 Parâmetros da água.....	28
5. DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÃO.....	32
7. BIBLIOGRAFIA.....	32
8. ANEXO – Tabela & Figuras.....	41

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Dosagem utilizadas em fêmeas de pescada-branca, grupo controle, e valores do Índice gonadossomático (IGS), comprimento padrão (CP), Peso total (Pt) e Peso da gônada.....	41
Tabela 2. Dosagem utilizadas em machos de pescada-branca, grupo controle, e valores do Índice gonadossomático (IGS), comprimento padrão (CP), Peso total (Pt) e Peso da gônada.....	41
Tabela 3. Valores médios dos parâmetros dos “chamados” emitidos por machos de <i>P. squamosissimus</i> durante o manejo fora da água (sons de perturbação – SP), no tanque-rede (TR) e durante o período de águas altas (cheia) e baixas (seca).....	42
Tabela 4. Monitoramento das variáveis físico-químicas da água durante o período de junho (2009) a maio (2010), com os valores mensais do Potencial hidrogênico (pH), condutividade elétrica da superfície, temperatura (°C), Oxigênio dissolvido (O.D), e variação da cor da água em preta e branca.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da área de estudo, indicando pontos de coleta de sons da pescada-branca. (1) Canal Xiboreno, (2) Laboratório flutuante do projeto pescada (experimento de indução reprodutiva), (3) Ilha do Catalão, (4 e 5). Lago do Catalão. Fonte: Google earth (período da seca de 2009).....	43
Figura 2. Método de canulação usado para avaliar o estado de maturação gonadal de fêmeas da pescada-branca (<i>P. squamosissimus</i>) criadas em tanque-rede.	43
Figura 3. Equipamento utilizado para captar e gravar sons emitidos por machos de pescada-branca. (A) gravador digital e (B) hidrofone.....	44
Figura 4. Variáveis utilizadas para caracterizar o som emitido por machos de <i>P. squamosissimus</i> , analisados no programa Raven pro 1.4. (A) Oscilograma e (B) sonograma ampliado onde área 1 e 2 indicam como o pulso e a frequência máxima foram determinadas, área 3 indica a medição da duração do chamado e 4 medição da frequência máxima (kHz). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.	44
Figura 5. Fotografia digital da amostra de ovócitos coletada de uma fêmea de <i>P. squamosissimus</i> madura sexualmente. São observados ovócitos em várias fases de desenvolvimento (I a V).	45
Figura 6. Fotografia digital dos ovócitos de <i>P. squamosissimus</i> em processo de maturação final (Fase V, ovócitos com 0.5 mm de diâmetro) com núcleo (N) em posição central (fase IV) ou migrando (fase V) para a periferia do folículo.	45
Figura 7. Frequência relativa padrão de classes de tamanho dos ovócitos encontrados em gônadas de fêmeas maduras de <i>P. squamosissimus</i> criadas em tanque-rede.	46
Figura 8. Exemplar <i>P. squamosissimus</i> após 3hrs. de aplicação da injeção apresentando coloração avermelhada do abdômen e rigidez, possivelmente devido ao manejo de seleção.	46
Figura 9. Fotografias de cortes histológicos de gônadas induzidas com Ovaprim, fêmeas A - 1.4 ml/kg e B - 0.8 ml/kg. n – núcleo; fa – folículo atrésico; gof – gotícula de óleo fusionada; fgv – Fusão das gotículas de vitelo; I a VI – Estádios de maturação dos ovócitos.....	47
Figura 10. Fotografias das gônadas e de cortes histológicos de fêmeas induzidas com hCG, Fêmea D - 200 UI/kg, fêmea E – 300 UI/kg e F – 400 UI/kg. Aumento 10x. n – núcleo; fa – folículo atrésico; I a V – Estádios de maturação dos ovócitos.	48
Figura 11. Fotografias de cortes histológicos de gônadas de machos induzidas com Ovaprim, macho: (1) dosagem de 0.1 ml/kg, (2) 0.4 ml/kg e (3) 0.8 ml/kg. Onde, DEP – Ducto Espermiático Principal; EZ – Espermatozoides; L – Lúmen; CG – Células germinativas.	49
Figura 12. Sincronismo do desenvolvimento gonadal e do músculo sonoro em machos de <i>P. squamosissimus</i> , quando o músculo sonoro está totalmente desenvolvido envolve por completo a gônada e demais órgãos.	50
Figura 13. (A) Oscilograma e (B) sonograma durante o período de águas baixas (seca), onde se observa que ocorre um par de pulsos antes do chamado. Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.....	51
Figura 14. (A) Oscilograma e (B) sonograma durante o período de águas altas (cheia), onde pode ser observado mais de um indivíduo. Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.	51
Figura 15. (A) Oscilograma e (B) sonograma dentro do tanque-rede, durante o período de águas baixas (seca). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.	52

Figura 16. (A) Oscilograma e (B) sonograma dos sons gravados quando os indivíduos eram segurados na mão (sons de perturbação), durante o período de águas baixas (seca). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9..... 52

1. INTRODUÇÃO

Apesar da grande diversidade de peixes que existe no Amazonas, há pouca diversificação na aqüicultura da região, focada principalmente em duas espécies, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) com ~83% e a matrinxã (*Brycon sp.*) com ~15% total da produção (IBAMA, 2008). Duzentos

A criação comercial de peixes é uma atividade que vem ganhando grande destaque devido à necessidade em se desenvolver atividades sócio-econômicas viáveis e ambientalmente sustentáveis nas comunidades ribeirinhas, como também para suprir parte do crescente déficit de pescados no mercado, que é resultado da redução dos estoques pesqueiros (IBAMA, 2006). Evidentemente, por se tratar de uma atividade que não tem tradição na região amazônica, e que requer infra-estrutura física e técnica e envolve custos operacionais, padece de sérias limitações. Dentre essas, podem ser destacadas a falta de “pacotes tecnológicos” aplicáveis às condições regionais. Apesar disso essa atividade é bastante estratégica para a região, sobretudo por causa de condições naturais favoráveis, como abundância de água, condições climáticas e aumento crescente por pescado de qualidade (Santos & Santos, 2005).

No Brasil, na última década, a criação em tanques-rede se expandiu de forma expressiva, devido à capacidade de conciliar o uso sustentável do ambiente com uma alta taxa de estocagem e produtividade (Gomes et al, 2004). O uso de tanque rede para a piscicultura em rios, lagos ou represas apresenta a vantagem da constante renovação de água, proporcionando alta produtividade em um pequeno espaço (Kubitza 2000). Para isto acontecer de fato, a escolha do local ideal é imprescindível para obter melhor desempenho produtivo (Brol, 2006).

Até agora, a criação comercial em tanque rede está orientada principalmente ao cultivo de espécies de alto valor comercial, incluindo Salmonídeos, como também espécies carnívoras marinhas e de água doce (FAO, 2007). Principalmente na China, onde muitas espécies da família Sciaenidae são cultivadas em tanque rede.

A família Sciaenidae é representada mundialmente por espécies marinhas e estuarinas com cerca de 80 gêneros e 300 espécies (Casatti,& Chao 2002), dentre elas quatro gêneros (*Plagioscion*., *Pachypops*. *Pachyuru* e *Petlipinni*) ocorrem em águas doces da América do Sul (Casatti, 2002). O gênero *Plagioscion* com cerca 15 espécies ocorre nas bacias dos rios Magdalena, Amazonas, Orenoco, Negro, Paraná e Guianas

(Casatti, 2005). Porém, as espécies provavelmente são um complexo de espécies, com variedades (ou espécies) diferenciadas.

Os Cienídeos de água doce, chamados de pescada ou corvina, se destacam por sua carne branca e baixo teor de gordura, (Rocha *et al.*, 1982). A pescada-branca vem se destacando como uma espécie bem sucedida na colonização de reservatórios (Agostinho & Júlio jr., 1999). Foi introduzida para povoamento de açudes, principalmente no Nordeste Brasileiro, onde desde 1935, são feitos estudos para aclimação e criação extensiva, no qual pode-se observar a precocidade na reprodução, e rápido desenvolvimento (Chacon, 1972). Depois dessa adaptação foi introduzida em diversos reservatórios do Sul e Sudeste brasileiro (Agostinho & Julio Jr., 1999), onde representa uma alta contribuição nas pescarias (Agostinho, 1994; Benedito-Cecilio, 1994), sendo considerado um peixe nobre pela população e bastante apreciado pelos consumidores. No Amazonas, o desembarque pesqueiro desta espécie representa aproximadamente mil toneladas por ano (IBAMA, 2008), com valor comercial entre R\$7,00 e R\$10,00/kg em feiras e supermercados da capital.

A pescada-branca habita ambientes bento-pelágicos de lagos e margens de rios de águas brancas, claras, pretas e mistas (Siqueira-Souza & Freitas, 2006), e é considerado um peixe carnívoro, alimentando-se principalmente de camarões e peixes (Almeida *et al.* 1997, Bennemann, 2006, Goulding, 1984).

A adaptação em cativeiro de espécies vindas de estoques naturais é um fator essencial no momento de escolher uma espécie para a piscicultura. Neste sentido, o estudo pioneiro de Batalha (2009) demonstrou que a pescada-branca pode-se adaptar muito bem quando criada em tanque-rede com profundidade de 2,0 m, onde apresenta bom crescimento e boa aceitação no consumo de pedaços de peixe, duas vezes ao dia.

O período reprodutivo de *Plagioscion squamosissimus* ocorre na época de alta precipitação pluviométrica (Felix, 2007; Negrão, 2006; Carnelós & Benedito-Cecilio, 2002; Castro, 1999) e elevadas temperaturas (Bialetzki, 2004), similar a maioria dos peixes tropicais de água doce (Kramer, 1978; Ferreira e Godinho, 1990; Fernandes, 1997; Winemiller, 1998; Ferreira, 2010; Godinho, Lamas, & Godinho, 2010). Segundo Batalha (2009) o pico da reprodução em tanque-rede ocorre entre janeiro e fevereiro, apresentando desova total nesse sistema de cultivo e não observando se é capaz de desovar em cativeiro.

A possibilidade de uma espécie de peixe reproduzir-se naturalmente em cativeiro foi um aspecto reprodutivo considerado durante vários anos uma característica desejável para uma espécie destinada ao cultivo (Zaniboni & Weingartner, 2007). Peixes criados em cativeiro podem deixar de receber certos estímulos externos, fazendo com que não haja uma resposta endócrina apropriada para a indução da maturação gonadal final. Por outro lado, a reprodução pode ser obtida fazendo-se uma simulação da resposta endócrina natural, através da manipulação ambiental ou aplicação de substâncias análogas aos estímulos hormonais intrínsecos (Andrade & Yasui, 2003).

A maioria dos esforços no uso de hormônios exógenos para controlar o ciclo reprodutivo na aquicultura tem-se focado principalmente na indução à maturação gonadal final (MGF), ovulação, espermiacão e desova de peixes que completam ou não esse processo em cativeiro, possibilitando a manutenção de um fluxo contínuo de larvas e alevinos de qualidade e quantidade (Martins *et al.*, 2008). Dentre os hormônios mais comumente empregados estão a glândula pituitária (PG), a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio análogo liberador de gonadotrofina (GnRH α).

Os primeiros trabalhos de indução à desova foram desenvolvidos paralelamente na Argentina (Houssay, 1930) e no Brasil (Ihering, 1935), quando foram obtidos resultados positivos de indução à maturação final e desova de peixes migradores, a partir da aplicação de hormônios naturais presentes na hipófise de peixes maduros. Essa técnica continua sendo uma das alternativas utilizadas para induzir a reprodução de peixes migradores em todo mundo, sendo conhecida como “Hipofização”.

A hipofização apresenta várias desvantagens, sendo as mais importantes: (a) a grande variabilidade na concentração do LH, (b) o potencial de transmitir doenças do peixe doador ao receptor (Zohar & Mylonas, 2001), (c) Dificuldade na coleta e estocagem das glândulas, (d) não disponibilidade de quantidade suficiente e qualidade de glândulas no momento certo e (d) Complexidade do processo de extração e preparação (Das, 2004).

A gonadotrofina purificada de origem humana vem-se mostrando um potente indutor da ovulação de várias espécies de Perciformes (Cerqueira & Tsuzuki, 2009; Zaki *et al.*, 2007, García-Alonso & Vizziano, 2004; Rahman *et al.*, 2001; Cerdà *et al.*, 1997), apesar de não estimular todas e podendo ou não apresentar respostas imunológicas do peixe ao hormônio. O hCG atua diretamente nas gônadas e é comumente aplicado em uma dose simples, em uma ampla margem de concentrações. A

efetividade deste hormônio após de um tratamento simples se deve provavelmente ao longo tempo de retenção na circulação sanguínea (Ohta et al, 1997).

O hormônio liberador de gonadotrofina de mamífero e os seus análogos (GnRHa) são efetivos para induzir a desova de várias espécies de peixes. Três grandes vantagens dos hormônios liberadores de gonadotrofinas são verificadas na indução à maturação final e à desova dos peixes. A primeira é que atuam no início da cadeia hormonal e estimulam o peixe a sintetizar a sua própria gonadotrofina, eliminando assim os problemas relacionados à utilização de gonadotrofinas de outras espécies. A segunda é que a molécula não é altamente espécie-específica, são estruturas simples e facilmente fabricadas, apresentam grande estabilidade estrutural e são efetivas com pequenas dosagens de aplicação e o seu uso é economicamente vantajoso (Harvey e Carolsfeld, 1993).

A administração de substâncias compostas (Ovaprim, Dagin, Ovopel e Aquaspawn, Ovudal) contendo GnRH-a e um inibidor da dopamina e/ou domperidona, tem contribuído para a retomada do uso de produtos com esses análogos, uma vez que elas possibilitam a administração da dose exata sem a necessidade de se pesar a solução (Crepaldi et al., 2006). A combinação de GnRHa e domperidona (DOM) é um método eficaz e confiável para a indução da ovulação e pode ser muito útil nos programas de reprodução e repovoamento de peixes (Heyrati et al., 2007). O Ovaprim[®] (hormônio liberador de gonadotrofina análoga de salmão, antagonista da dopamina e domperidona) é um potente indutor que existe hoje em dia no mercado e tem sido utilizado em varias espécies de peixes (Nwokoye et al., 2007; Sahoo et al., 2007; Adebayo & Popoola, 2008; Jamróz M., 2008) mostrando bons resultados com pequenas dosagens, acelerando a maturação final dos ovócitos (Metwally & Fouad, 2008).

Resultados negativos de tentativas não publicadas sobre a indução reprodutiva com hCG e GnRH na pescada-branca criada em tanque-rede podem indicar que esta espécie não responde a tratamento hormonais.

Um dos aspectos reprodutivos mais interessantes sobre a família Sciaenidae é a produção de sons, principalmente durante o período reprodutivo para congregação de cardume (Mok et al., 2009; Luczkovich et al., 2008; Lagardère & Mariani, 2006). Os sons são emitidos através de um par de músculos sonoros presentes em machos ou em ambos os sexos de algumas espécies da família, localizado na parede abdominal da cavidade celômica e juntamente com bexiga gasosa é responsável de produzir sons auditáveis (Chao, 1978).

Batalha (2009) destaca que *P. squamosissimus* apresenta dimorfismo sexual, onde somente os machos produzem sons (roncos) audíveis. Os roncos do macho provêm ao utilizar sua desenvolvida bexiga natatória como câmara de ressonância das vibrações do músculo sonoro extrínseco. Este músculo não foi encontrado nas fêmeas, mas sim foi observado que estas produzem sons possivelmente através dos dentes faringianos. O músculo nos machos está presente o tempo todo, e provavelmente seu desenvolvimento é maior durante a época de reprodução onde poderia englobar toda a bexiga natatória e vísceras.

Estudos em campo utilizando o método “acústico passivo” permitiram monitorar a atividade da desova de uma agregação residente de *Cynoscion nebulosus* (Sciaenidae) por longo período de tempo (Walters et al., 2005). E foi possível mapear áreas de desova de *Cynoscion regalis*, *Bairdiella chrysoura*, *C. nebulosus* e *Sciaenops ocellatus* (Luczkovich et al., 1998) e delimitar áreas costeiras restritas de desova para *Protonibea diacanthus* (Mok et al., 2009).

O método “acústico passivo” se baseia em ouvir os sons produzidos pelos peixes sonoros para inferir sua distribuição e comportamentos, portanto é uma técnica limitada às espécies sonoras (que propagam som) juntamente com o tempo e lugares que os produzem (Mann et al., 2007), fornecendo benefícios importantes para a investigação pesqueira como, primeiro, é um método não visual que permite inferir sobre a distribuição e atividades dos peixes. Em segundo lugar, é uma ferramenta observacional não invasiva e não destrutiva. Terceiro, fornece a capacidade de monitoramento remoto permanente ou de longa duração. O acompanhamento ao longo prazo fornece importantes informações sobre padrões diários e sazonais dos peixes (Rountree et al., 2006). Padrões temporais de comportamento tais como a desova, podem ser inferidos pela simples gravação e análises dos sons utilizando técnicas de processamento de sinais (Luczkovich et al., 2008).

O presente trabalho busca estudar importantes aspectos reprodutivos da pescada-branca criada em tanque-rede, sendo pioneiro na reprodução induzida e na utilização dos sons produzidos pelos machos desta espécie para a seleção de exemplares maduros aptos para a reprodução.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a maturação gonadal de fêmeas e machos utilizando dois tipos de indutores artificiais como também os sons produzidos pelos machos.

Objetivos secundários

- Avaliar os métodos de manejo e seleção de exemplares maduros de *P. squamosissimus* aptos para o processo de indução reprodutiva.
- Avaliar o efeito do Hormônio Liberado de Gonadotrofina - GnRH (Ovaprim®) como indutor para a maturação gonadal de machos e fêmeas de *P. squamosissimus*.
- Avaliar o efeito da Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) como indutor para a maturação gonadal de machos e fêmeas de *P. squamosissimus*.
- Inferir sobre os estados de maturação sexual da pescada-branca a partir de sons produzidos pelos machos no ambiente natural e no tanque-rede.

3. MATERIAL & MÉTODOS

3.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório Flutuante do Projeto Pescada-branca, localizado na Comunidade Nossa Senhora de Aparecida no Lago do Catalão, a 5 km do porto fluvial da Ceasa de Manaus, próximo a uma área de confluência dos rios Negro e Solimões (03° 09'33" S e 59° 54' 34,7" W) (Fig. 1).

O Lago Catalão é uma área importante para o desenvolvimento de larvas de peixes, inclusive da pescada-branca. Este lago também serve como área de dispersão e alimentação dos peixes nesta fase do desenvolvimento. Além disso, muitas espécies residentes se reproduzem no próprio lago durante a enchente dos rios (Leite et al. 2006).

Como a maioria dos lagos de várzea amazônica, o Lago Catalão aumenta ou diminui de tamanho de acordo com o nível dos rios adjacentes. O Lago Catalão normalmente conecta-se ao rio Solimões através de um curto carnal, após os primeiros meses de subida das águas. Por outro lado, raramente fica totalmente desconectado do rio Negro. Nas secas mais intensas, este lago se resume a uma pequena área denominada “poção” e, mesmo assim, continua vertendo água para o rio Negro.

3.2 Avaliação da reprodução induzida de *P. squamosissimus*

3.2.1 Manejo e seleção de matrizes

O estudo foi realizado com exemplares de pescada-branca (*Plagioscion squamosissimus*) em cativeiro há 36 (primeiro lote), provindas de estoques naturais, e eram alimentados com pedaços de peixes duas vezes ao dia (10% da biomassa total). Os exemplares estavam em tanques-rede de 12m³, com comprimento padrão médio de 30.1 ±3.1 cm e peso total médio de 544.3 ±159.5g.

Para o manejo e seleção de indivíduos sexualmente maduros cada tanque-rede foi amostrado mensalmente a partir de outubro de 2009 (início do período reprodutivo segundo Batalha, 2009). Os peixes eram individualmente retirados de um tanque rede (12m³) com puçás e logo colocados em caçapas para as observações.

A seleção realizou-se seguindo critérios externos e internos de maturação. Inicialmente foram selecionados fêmeas e machos que apresentem sinais externos de maturação sexual, como, uma coloração avermelhada na nadadeira pélvica e anal, e um dilatamento do abdômen e/ou do orifício urogenital, no caso dos machos a produção de sons também foi considerada (Batalha, 2009).

Indivíduos pré-selecionados foram estocados em caixas de polietileno de 500 L contendo água do próprio rio. Exemplares sem essas características foram colocados novamente no tanque-rede.

Para verificar a ocorrência de fêmeas maduras baseado em caracteres internos, estas primeiramente selecionadas eram retiradas dos tanques e logo submetidas a uma biopsia para a obtenção de uma amostra dos ovócitos através do método de canulação intraovárica, via papila genital (Bieniartz & Epler, 1976).

Na canulação os ovócitos foram coletados por sucção, introduzindo (aproximadamente 5 cm) um cateter de polietileno de 1,0 mm de diâmetro pelo oviduto (Fig. 2), onde fêmeas com ocorrência de ovócitos com tamanho ≥ 0.5 mm foram selecionadas para a indução reprodutiva. As amostras de ovócitos obtidos pelo método de canulação foram colocadas em placas de petri e observadas na lupa, e o diâmetro dos ovócitos foi medido com ocular micrométrica e foram analisados pela frequência de distribuição por tamanho (Vazzoler, 1996). As fases de desenvolvimento dos ovócitos foram observadas em microscópio e caracterizadas segundo a classificação utilizada por Felix (2009) modificada, Fase I – Pré-vitelogênica ($\leq 53 \pm 11 \mu\text{m}$); Fase II - Vitelogênica e lipídica inicial ($136 \pm 28 \mu\text{m}$); Fase III - Vitelogênica e lipídica

intermediária ($197 \pm 11 \mu\text{m}$); Fase IV: Vitelogênica e lipídica avançada ($322 \pm 50 \mu\text{m}$); Fase V - Migração do núcleo; Fase VI - Pré-ovulação.

A seleção de machos foi realizada através de amostras de sêmen (in vivo) coletada por massagem abdominal, no sentido ântero-posterior, utilizando uma escala subjetiva, onde 0 = Sem liberação de esperma, 1 = somente uma gota de esperma liberada após várias massagens abdominais, 2 = esperma facilmente liberado na primeira massagem e 3 = abundante quantidade de esperma após uma leve pressão abdominal (Rainis et al., 2003), foram considerados machos nos níveis 1, 2 e 3.

Durante o procedimento de seleção, os exemplares foram medidos (cumprimento total – CT; comprimento padrão - CP) e pesados para determinar a dosagem dos indutores reprodutivos a serem utilizados.

3.2.2 Hormônios indutores e estocagem após-indução

Foi utilizado o hormônio liberador de gonadotrofina análoga de salmão (antagonista da dopamina e domperidona) (Ovaprim[®] com dosagens independentes de 0,8 e 1,4 ml/Kg peso vivo em fêmeas, e em machos 0,1; 0,4 e 0,8 ml/Kg peso vivo em machos.

A Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) foi utilizada separadamente em concentrações de 200, 300 e 400 IU de hCG / Kg de peso vivo em fêmeas, e 300 de hCG Kg/peso vivo em um único macho. O hCG liofilizado foi diluído em soro fisiológico (1,0ml). Para ambos os indutores foi utilizado uma seringa de 1 ml e agulha tipo 20G1 aplicada intraperitonealmente na região abaixo da nadadeira peitoral de cada exemplar em dosagem única (uma única fêmea recebeu injeção muscular).

Após a injeção cada peixe foi novamente colocado individualmente em um tanque de polietileno de 500 litros. Nos testes com ovaprim os tanques eram de fluxo aberto, havendo renovação constante da água bombeada diretamente do rio. Com hCG não havia renovação da água nos tanques (500l), mas sim uma aeração constante com pedra difusora.

Após indução, em ambos os experimentos os peixes foram observados a cada três horas (durante o período total de doze horas), e parâmetros físico-químicos da água (T° e OD) foram monitorados. Completado de tempo de doze horas os indivíduos foram sacrificados, e posteriormente realizou-se a retirada e pesagem das gônadas para análises macroscópica e histológicas.

3.2.3 Índice gonadosomático (IGS)

Os valores de IGS foram obtidos de todos os indivíduos induzidas como também de seis exemplares fêmeas e três machos que não foram induzidos. O IGS foi calculado segundo Vazzoler (1996), utilizando a seguinte equação: (peso total da gônada / peso total) * 100. Utilizando o valor médio para as análises. O IGS foi utilizado para inferir sobre o efeito dos indutores no processo de maturação final das gônadas.

3.2.4 Análises histológica das gônadas

Para a histologia, fragmentos da parte média de gônadas induzidas de fêmeas e machos foram colocados em cassetes plásticos e desidratados em álcool 70, 80, 90 e 100% (álcool etílico) por uma hora em cada, logo ficaram por uma hora em solução de xilol e álcool e mais uma hora em xileno para o clareamento das amostras. Após esse tempo, foi feita a impregnação em parafina (dois banhos à 60°C cada um por uma hora) na estufa. Foram realizados cortes com espessura de 5 µm. Para a retirada do excesso de parafina as laminas foram colocadas na estufa por 30 minutos e logo passaram por dois banhos de xilol (5 minutos em cada um), dois de álcool absoluto, um de álcool 96% e 70% (1 minuto em cada), em seguida as laminas passaram por um banho de água por 5 minutos e corados com Hematoxilina por 15 minutos e Eosina (2 banhos rápidos).

3.3 Avaliação dos sons emitidos pelos machos de *P. squamosissimus*

3.3.1 Sons e maturação sexual de machos de pescada-branca

Para avaliar a maturação sexual dos machos em cativeiro foram feitas gravações dos sons no ambiente natural, no tanque-rede, como também durante o manejo para a seleção de exemplares maduros de pescada-branca (som de perturbação).

3.3.2 Metodo de gravação

Utilizou-se o método acústico passivo e as gravações foram feitas com um hidrofone *H2a* (com rango de frequência de 20 Hz – 100 kHz) conectado a um gravador digital *Olympus WS-400S* (50 Hz – 190 kHz) (Fig. 3). Cada ponto de gravação foi

marcado utilizando um GPS e também foi feita a medição da profundidade com ecosonda.

3.3.3 Período e locais de gravação

As gravações no ambiente natural e no tanque-rede foram feitas no período de águas baixas (novembro, dezembro e janeiro), período reprodutivo da pescada-branca (Batalha, 2009), e durante o período de águas altas (junho, julho e agosto). No ambiente natural foram gravados sons nos pontos (1) Canal Xiboreno, (3) Ilha do Catalão, (4) e (5) Lago do Catalão. Os sons do tanque rede foram obtidos do Laboratório Projeto Pesca (ponto 2) (Fig. 1).

Para captar sons dos tanques-rede o hidrofone sempre foi submerso a uma profundidade de 1 metro durante 15 a 60 minutos. Em cada um estavam estocadas pescadas adultas (com comprimento padrão médio de 30.1 ± 3.1 cm), pertencentes ao Laboratório Flutuante do Projeto Pesca localizado na desembocadura do lago do Catalão (Mapa ponto 2).

Os sons foram gravados em cada ponto durante o entardecer (17:00 h). O tempo de gravação dependia da quantidade e qualidade de sons captados (entre 30 e 120 minutos). No momento das gravações no ambiente natural o motor do bote sempre foi desligado e o hidrofone era submerso a uma profundidade de 1 a 5 metros.

Durante biometrias e seleção de machos para a indução reprodutiva foram obtidos sons de indivíduos manejados fora da água, sons de Perturbação (SP), onde os machos eram segurados com a mão. O gravador era colocado na região anterior do abdômen, próximo da cabeça, e o tempo de gravação foi entre 1 e 2 minutos.

3.3.4 Análises dos sons

Os dados acústicos foram editados e analisados nos programas *Easy Audio Cutter* e *Raven pro 1.4* respectivamente. As análises dos sons captados incluíram: (A) número de pulsos/chamado; (C) duração dos chamados (s); (D) máxima frequência dos chamados. A determinação do pulso completo foi baseada no oscilograma e sonograma, a duração do chamado foi medida a partir do maior pico do primeiro pulso até o maior pico do último pulso, a medição da frequência foi baseada no sonograma (Fig. 4).

3.4 Monitoramento das variáveis físicas e químicas da água nos tanques-rede

As medições das variáveis físicas e químicas tiveram como finalidade monitorar as condições da água. Semanalmente foram tomadas medidas dos seguintes parâmetros: potencial de hidrogênio iônico (pH) e condutividade ($\mu\text{s}/\text{cm}$), como também temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e o oxigênio dissolvido (mg/l), e coloração da água (rio negro água preta, rio Solimões água branca). Dados coletados *in loco*.

Os valores da cota do nível de água rio Negro em Manaus, foram obtidos através dos dados oficiais coletados pelo Serviço Geológico do Brasil (CPRM) em 2009 e 2010.

3.5 Análises estatística

Para análises dos parâmetros de diâmetro dos ovócitos, valores de IGS e dos sons produzidos pelos machos nos ambientes estudados, foi utilizado ANOVA critério único, com o teste de Bonferrone. Para todos os parâmetros analisados no software *BioEstat 5.0*.

4. RESULTADOS

4.1 Reprodução Induzida

4.1.1 Manejo e seleção de exemplares maduros

Nas amostragens realizadas durante os meses de novembro a janeiro não foram encontrados indivíduos com sinais externos de maturação, estes apresentavam nadadeiras brancas e sem dilatação do abdome e poro urogenital. As pescadas com sinais de maturação foram identificadas durante a enchente de 2010 (fevereiro e março).

Houve dificuldade na escolha dos indivíduos devido a que a maioria apenas apresentava nadadeiras avermelhas. Em algumas fêmeas pré-selecionadas não foi possível extrair amostra dos ovócitos, possivelmente por não estarem maduras sexualmente.

De todas as formas, o método de canulação foi bastante efetivo e permitiu extrair, analisar e medir 953 ovócitos com tamanhos que variam de 0,15 a 0,60 mm de diâmetro. Antes da indução, foram encontrados ovócitos pré-vitelogênicos (fase I), vitelogêneses inicial (fase II), vitelogêneses intermédia (fase III), vitelogêneses

avançada (fase VI), com migração do núcleo (fase V) (Fig. 5). Os peixes com ovócitos no estágio V são considerados peixes maduros e aptos a serem induzidos (Fig. 5 e 6).

Os ovócitos apresentaram média de $0,40 \pm 0,12$ mm de diâmetro, com dois picos, sendo a maior moda de ovócitos com tamanhos entre 0,45 e 0,55 mm (Fig. 7), indicando que a fêmea estava em processo de maturação avançada e apta para ser induzida. Este padrão caracteriza a pescada-branca com um desovador total sincrônico em dois grupos. Possivelmente a pescada-branca pode desovar mais de uma vez durante o seu período reprodutivo, neste caso o menor grupo seria utilizado na segunda desova.

Os machos que foram previamente selecionados em base caracteres externos, liberaram apenas uma gota de esperma após várias massagens abdominais (nível 1), não foram encontrados machos nos níveis 2 e 3 de maturação.

Apesar das dificuldades durante a escolha de exemplares maduros para os testes, foi possível selecionar um total treze exemplares ($n=13$), dos quais nove (três fêmeas e seis machos) foram utilizados nos testes com Ovaprim, e quatro para os teste com hCG (três fêmeas e apenas um macho).

A pescada-branca mostrou ser um peixe muito delicado nos procedimentos de manejo e processo de indução, onde sofreu danos físicos o que estimulo possivelmente respostas fisiológicas negativas.

Durantes as primeiras horas após a indução de ambos os testes, em machos e fêmeas foi observado uma maior coloração nas nadadeiras pélvica e anal, junto com um maior dilatamento do poro urogenital, como também uma aparente perda da mucosa na região do abdômen e enrijecimento do mesmo. Não ocorrendo desova após leve massagem abdominal. Os indivíduos apresentaram hematomas (marcas bastante avermelhadas) na lateral do abdômen (Fig. 8), e com o passar do tempo começaram a perder o equilíbrio, nadando em forma diagonal com a cabeça fora da água e com pequenos pulos. Isto indica que o manejo realizado tanto nos machos como nas fêmeas precisa ser reavaliado.

4.1.2 Análises do índice gonadossomático (IGS)

Houve diferença significativa ($p<0,05$) no valor de IGS, sendo maior nas fêmeas induzidas com Ovaprim[®] ($5,1 \pm 1,5$) quando comparadas com fêmeas induzidas com hCG ($2,2 \pm 0,4$), a concentração de 1,4 ml de ovaprim/kg de peixe teve um IGS de 6,0, quase o dobro da fêmea injetada com 0,8 ml (Tab. 1), indicando que o processo de maturação final da gônadas poderia estar ocorrer mais rápido em fêmeas induzidas com

de ovaprim. Aparentemente nas fêmeas não existe diferença nos valores de IGS nas diferentes concentrações utilizando hCG. Em fêmeas selecionadas e que não foram induzidas apresentaram um IGS médio similar ($p > 0.05$) ao obtido com hCG (Tab. 1), indicando que durante as 12 horas de indução não foi possível ver o efeito deste indutor.

A igual que nas fêmeas, os machos induzidos com ovaprim apresentaram IGS maior (0.6 ± 0.1) que em hCG (IGS 0.3) valor similar aos machos controle. Nos machos não há diferenças aparentes entre as diferentes dosagens utilizando o Ovaprim[®] (Tab. 2).

4.1.3 Análises histológica das gônadas

As fêmeas injetadas com 1.4 ml de ovaprim/kg apresentaram um grande número de ovócitos com gotículas de óleo fusionadas ou em processo de coalescência, isso ocorreu juntamente com a fusão de glóbulo de vitelo (fase VI), onde o núcleo não é mais visível, pois tem a sua membrana rompida ao chegar à periferia da célula, fazendo com que o seu material nuclear passe para o citoplasma, indicando que os ovócitos estavam em um processo de hidratação e maturação final. Em menor número observaram-se também ovócitos em maturação avançada (fase IV) e ovócitos com migração do núcleo (fase V). Os ovócitos da fase IV apresentaram o citoplasma com grande quantidade de glóbulos de vitelo e de gotículas de óleo espalhados por toda a célula, momento quando começa a fundir-se (Fig. 9 A e a). Os ovócitos da fêmea induzida com 0.8 ml de ovaprim/kg apresentaram o núcleo aparece na posição central e há grande quantidade de glóbulos de vitelo e gotículas de óleo espelhadas dentro dos ovócitos (Fase IV), algumas começando a fusão, como também de atresia folicular ocorrendo com maior frequência em ovócitos em fases avançadas de maturação, em alguns (Fig. 9 B e b).

Nas gônadas de fêmeas induzidas com Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) os ovócitos da fêmea injetada com 300 UI de hCG por quilo de peso vivo apresentou grande quantidade de glóbulos de vitelo e gotículas de óleo (Fig. 10 E) quando comparada com as fêmeas induzidas com 200 e 400 UI/kg. Nestes ovócitos o núcleo foi encontrado na posição central (fase IV), migrando para a periferia da célula (fase V) e em alguns não foi visível. Tanto os glóbulos de vitelo como as gotículas de óleo não aparentaram processo de fusão, como foi encontrado nos ovócitos das gônadas dos peixes induzidos com Ovaprim[®]. Neste caso também foi encontrado um grande número de ovócitos nas diferentes fases de atresia (Fig. 10).

Os machos induzidos com Ovaprim[®] foram os que apresentaram maior quantidade de espermatozoides (EZ) no lúmen (L), o lúmen apresentou forma alongada convergido para o centro do testículo, indicando que este estava em uma fase intermédia de maturação, com presença do ducto espermático principal (DEP), na figura 11 observa-se que os espermatozoides, frequentes, começam a preencher o lume dilatado dos túbulos seminíferos e da porção intratesticular do ducto espermático. O macho injetado com 300 UI de hCG/kg apresentou lúmen alongado e em processo de maturação, aparência similar aos machos injetados com Ovaprim[®].

4.2 Sons dos machos

4.2.1 Sons e maturação sexual

A pescada-branca apresenta dimorfismo sexual, onde apenas os machos possuem músculo sonoro e som audíveis diferenciado da fêmea. Este músculo está sempre presente em indivíduos adultos, e foi observado que existe uma hipertrofia do músculo com respeito à maturação das gônadas. Nas fases iniciais de maturação o músculo aparece como uma fina camada, de cor rosada e quase translúcida na lateral da bexiga gasosa não a cobrindo completamente. À medida que a gônada avança no processo de maturação este músculo vai se tornando mais espesso cobrindo a bexiga natatória e vísceras. Quando as gônadas alcançam um estado avançado de maturação o músculo apresenta bastante irrigação devido a sua cor avermelhada intensa (Fig. 12) podendo produzir chamados mais longos.

Os machos em geral começam a emitir o som no final da tarde. Durante as análises das gravações, foi possível analisar que os roncões continham um trem de pulsos, de número variável dependendo do ambiente e da época do ano. Machos maduros são capazes de produzir sons mais longos que machos em processo de maturação. Durante as gravações análises não foi possível detectar os sons tipo “clicks” produzidos pelas fêmeas.

4.2.2 Sons no ambiente natural

No habitat natural os “chamados” ocorreram como balbúrdias durante todo o período do estudo. Durante o período de águas baixas (seca) os sons foram gravados próximos da margem esquerda (Mapa ponto 3) da ilha do Catalão e no canal do

Xiboreno (Mapa ponto 1), não ocorreram sons nos pontos (4) e (5) do Lago do Catalão durante o mesmo período.

Os sons foram obtidos a profundidades entre 8 e 12 metros, sendo possível detectar “chamados” de vários indivíduos em toda a área, mostrando uma possível agregação do cardume de pescadas-brancas.

Nesse período ocorrem indivíduos capazes de produzir “chamados” com variações de durações e pulso, de qualquer forma foi o período onde ocorreram os chamados de maior duração e conseqüentemente com maior número de pulsos, indicando provavelmente a presença de pescadas maduras sexualmente, como também algumas ainda em processo de maturação (Fig. 13).

Os “chamados” tiveram rango de duração entre 0.162 e 0.660 segundos (s), contendo de 9 a 35 pulsos por “chamado”, onde foi possível correlacionar estes dois parâmetros (Fig. 16). Também foram detectados pulsos individuais e pareados, sempre prévios ou depois aos “chamados” de longa duração, podendo iniciar os eventos de chamados em um indivíduo. Os chamados durante a seca em média tiveram uma frequência máxima de 1886.0 kHz (Tabela 3).

Durante período de águas altas (cheia) os “chamados” ocorreram apenas no ponto 4, dentro do lago do Catalão. Os sons encontrados unicamente em um poço de 20 metros de profundidade (Mapa ponto 4), onde foi possível obter “chamados” de vários indivíduos, formando também um possível cardume. Os “chamados” tiveram menor duração quando comparados com o período seco (entre 0.117 e 0.182 (s) e entre 7 e 10 pulsos por “chamado”, observa-se que praticamente todos os “chamados” nesse período estão dentro desse intervalo (Fig. 14). em este período houve diferenças nas frequências máximas, onde durante a cheia tiveram média de 1383.4 Hz, sendo mais baixas quando comparada com o período seco (Tabela 3).

Estes valores podem indicar que os indivíduos estão em processo inicial de maturação. A ocorrência dos “chamados” em uma área específica do lago e mais profunda, pode caracterizar um comportamento de agregação do cardume em uma área talvez mais segura e como estratégia de defesa contra predadores. Durante as gravações foram vistos alguns indivíduos de *Inia geoffrensis* (boto vermerlho ou cor-de-rosa) em áreas mais rasas do lago.

4.2.3 Sons no tanque-rede (TR)

Dentro do tanque-rede não foram captados sons durante o período da cheia, sendo obtidos “chamados” apenas no período da seca (Fig. 15), com duração de 0.078 a 0.602 (s) e de 6 a 24 pulsos por “chamado”. Não houve diferença significativa entre os valores de máxima frequência entre os chamados do tanque-rede comparados com o da seca (Tabela 3), houve diferenças na duração e no número de pulsos. Os valores encontrados podem significar que dentro do tanque rede os indivíduos estão em um processo intermédio de maturação gonadal, sendo até possível que exista alguma disfunção no desenvolvimento gonadal dos machos de pescada em mantidos em cativeiro.

Não houve diferença significativa entre a frequência máxima emitida na seca com a do tanque-rede na seca quando comparados com o tanque-rede ($p > 0.05$), indicando possivelmente um mesmo estágio de maturação gonadal.

4.2.4 Sons de perturbação

No mês de junho foram capturados exemplares vivos de pescada-branca próximos a área de estudo para compor o plantel de reprodutores do projeto pescada, as capturas foram próximas dos pontos (1), (2) e (3) (Fig. 1) utilizando linha com anzol e camarão como isca. Análises de sons de 49 machos (CP médio de 18.8 ± 3.3) manejados durante a biometria indicaram que em indivíduos entre 13.0 e 19.0 cm de comprimento padrão (CP) não é possível ouvir algum tipo de som, mas sim foi sentida uma leve vibração do músculo sonoro. A partir de 19.0 cm de CP os sons produzidos pelas contrações do músculo sonoro começaram a ser audíveis, indicando possivelmente adultos iniciando o processo de maturação gonadal.

No manejo para a seleção de machos maduros para a indução reprodutiva foram obtidos “chamados” com durações que variam de 0.100 a 0.483 (s), e 5 a 22 pulsos por “chamado” (Fig.16 D). Como foram encontrados menores valores de número de pulso por “chamado” e “chamados” de menor duração nos machos que foram selecionados para a indução reprodutiva, poderia indicar que os machos ainda não estejam suficientemente maduros para o processo (Fig. 16).

4.3 Parâmetros da água

O Lago Catalão sofre influência direta do encontro dos rios Negro e Solimões. As características físicas e químicas da água nos tanques-rede no período entre junho de 2009 a maio de 2010 apresentaram os seguintes valores médios de pH ($5,6 \pm 0,7$), condutividade ($51,3 \pm 36,4 \mu\text{s/cm}$), temperatura ($31,3^\circ\text{C} \pm 1,3$), oxigênio dissolvido na superfície ($5,0 \text{ mg/l} \pm 1,1$) (Tab. 4).

Esta região apresenta uma grande variação nas suas características limnológicas, na saída do lago, refletindo as mudanças do tipo de água predominante no local ao longo do ano, que depende de uma maior ou menor influência sazonal dos rios Solimões e Negro. Sendo que de agosto a fevereiro predominou a água preta, e entre os meses de março a julho com predomínio da água branca, isto ocorre devido ao processo de barramento natural, provocado pelo aumento do fluxo de água do rio Solimões sobre o rio Negro.

As oscilações do nível da água do rio Negro no período de junho (2009) a maio (2010), foram de 29,6 metros a máxima e 13,6 a mínima, sendo ambas marcas recordes históricos para a região, tendo uma variação de 16,0 metros da cheia para a seca.

Estas variações de subida e descida do nível do rio têm influência direta na mudança da dinâmica dos parâmetros físicos e químicos da água e no ciclo reprodutivo dos peixes, visto que, no período da seca, os tanques-rede sofreram influência da água do rio Negro e na cheia do rio Solimões, o que poderia ter influenciado os resultados deste trabalho.

Nos meses onde foram encontrados exemplares maduros (fevereiro e março de 2010) ocorreu a transição de água preta (rio Negro) para branca (rio Solimões), e onde houve maior mudança de pH e condutividade, sendo 4,3 a 6,1 (pH) e 27,0 e 43,0 ($\mu\text{s/cm}$) respectivamente, esta transição talvez seja o gatilho para indicar o processo de reprodução.

No início do mês de maio (2010) houve mortalidade total do plantel de reprodutores do Projeto Pescada, isto pode ter ocorrido devido a uma queda nos níveis de oxigênio dissolvido (OD) na água, consequência da decomposição da matéria orgânica quando a água alcança as planícies inundáveis.

5. DISCUSSÃO

Durante o processo de indução notou-se a dificuldade de manejar as pescadas logo que colocadas dentro das caixas de polietileno de 500 l, devido à turbidez da água não houve visualização dos peixes a simples vista o que exigiu muito tempo para a sua retirada, causando maior dano e estresse. Hematomas indicam a fragilidade que a pescada-branca apresenta para este processo, devendo-se reavaliar o método de seleção de machos maduros e extrusão

A pescada-branca apresentou dois grupos de ovócitos, e foi caracterizado como desovador total em grupos, no Rio Pará (PA) esta espécie apresenta desova parcelada (Negrão, 2006). No reservatório de Pedra, Rio de Contas (BA) foi caracterizado como sendo sincrônica em mais de dois grupos (Felix et al., 2009). Na represa de Barra Bonita, Rio Piracicaba (SP), a presença de várias modas, relativas aos diferentes grupos de ovócitos em desenvolvimento, também sugere um mecanismo de desenvolvimento ovocitário sincrônico em mais de dois grupos, produzindo uma desova parcelada (Braga, 1997).

O valor do IGS de machos e fêmeas maduros de *P. squamosissimus* obtidos neste trabalho foi praticamente o dobro ao IGS relatado por Batalha (2009) e Riofrío (2009) durante a época de reprodução desta espécie, isto poderia indicar um efeito positivo dos indutores utilizados para a maturação sexual da pescada-branca, principalmente com Ovaprim[®]. No caso da pescada-branca o Ovaprim[®] pareceu ser um indutor efetivo e rápido na maturação final dos ovócitos, isto também foi observado para varias espécies de peixes, onde uma única dosagem entre 0.2 e 1.5 ml/kg aplicada intraperitonealmente foi eficaz na maturação dos ovócitos (Nwokoye et al. 2007; Olubiyi et al., 2005; Cordero et al. 2003).

Não foram observados os efeitos do hCG na pescada-branca depois de 12 horas da indução, possivelmente a maturação final dos ovócitos leve mais tempo, segundo García-Alonso & Vizziano (2004) o ovário de *Micropogonias furnieri* em cativeiro mostrou uma resposta positiva quando foram estimulados com hCG, onde doses de 100 e 300 IU kg⁻¹ foram efetivas ao induzir a maturação final dos ovócitos em 72 e 48 h respectivamente.

Segundo Miranda et al. (1999) a atresia folicular é um fenômeno comum nos ovários dos vertebrados em condições naturais e experimentais e pode ser induzida por fatores como estresse, confinamento e inadequados níveis hormonais. No caso da

pescada-branca, isto, junto com o manejo poderia explicar a ocorrência dos folículos atrésicos na pescada-branca após o processo de indução reprodutiva. Rodrigues et al. (2005) afirma que, embora a atresia possa ocorrer em praticamente todos os estádios de desenvolvimento dos ovócitos, no caso da pescada-branca este processo parece ser mais comum nos ovócitos vitelogênicos, o processo de atresia pode ocorrer em ovócito de fase IV e em ovócito de fase V. A ocorrência de atresia em ovários de peixes que não desovam após indução hormonal indica que o processo degenerativo pode ser um fator no fracasso da método. A atresia folicular pode reduzir o potencial reprodutivo, uma vez que é observada quando o índice gonadossomático ainda é alto, e pela presença de oócitos atrésicos adjacente ao ovócitos normais na ovulação (Miranda et al. 1999), isto também foi observado na pescada-branca.

A igual que em *P. squamosissimus*, o músculo sonoro de *Leiostomus xanthurus* e *Cynoscion regalis* esta presente somente nos machos, onde em *C. regalis* também ocorre junto com a maturação dos testículos (Hill et al., 1987) e triplica em massa durante o período reprodutivo (Connaughton et al., 2002), a hipertrofia muscular também foi observada em *Argyrosomus regius* (Lagardère & Mariani, 2006), segundo Connaughton et al. (1997) a hipertrofia muscular sazonal funciona como uma característica sexual secundária.

Foi observado que o som emitido por machos de pescada-branca é similar aos encontrados em outras espécies da família Sciaenidae, onde o som é constituído por trens de pulsos de numero variável. Em *Kathala axillaris* o som consistiu uma combinação de vários pulsos sonoros, sendo a maioria constituídos por grupos de três pulsos e a sua proporção diminuiu em cativeiro (Veerappan et al., 2009), este autor acredita que isto ocorra devido à menor actividade de natação, no caso da pescada-branca a diminuição de pulsos pode estar relacionada também com a disfunção na maturação gonadal do macho em cativeiro.

Segundo Bialecki et al. (2004) a desova da pescada-branca acontece no período da noite, onde são abundantes os ovos que estão no início do desenvolvimento embrionário, os ovos em estágio avançado de desenvolvimento são encontrados no final da noite. Isso tem relação com o início da produção de sons por parte dos machos de pescada-branca, que começam a serem emitidos no final da tarde, para agregar o cardume e iniciar o processo de desova durante a época da seca quando estão sexualmente maduros.

Os sons de maior duração emitidos pelos machos da pescada-branca durante o período da seca poderia indicar que os machos estão em período reprodutivo e que áreas pouco profundas e calmas da margem direita do rio Negro, próximo do encontro das águas (rios Negro e Solimões) seria o sítio de desova desta espécie, segundo Bialetzki et al. (2004) os adultos da pescada-branca desovam principalmente em ambientes lénticos, a igual que em nossa espécie de água doce, em uma espécie marinha (*Protonibea diacanthus*) foram localizadas e delimitadas áreas costeiras restritas de desova para no sudoeste da ilha, principalmente em profundidades menores a 15 m (Mok et al., 2009), em esta espécie, o rango de duração dos chamados, o numero de pulsos por chamado e a máxima frequência tiveram valores similares aos encontrados na pescada-branca.

A pescada-branca apresenta padrões migratórios sazonais e espaciais relacionados com a reprodução, momento em que sai do lago na vazante e seca para se reproduzir em áreas rasas próximo as margens do rio, ficando nessa área ate o final do período reprodutivo. Durante a enchente e cheia essas migrações ocorreriam diariamente, saindo do lago no inicio do dia em busca de alimento e retornado no final da tarde, para a região de abrigo na área mais profundo do lago.

A captura de exemplares na margem direita do Rio Negro em junho estaria indicando que os peixes podem sair do lago ao amanhecer e usar a área da margem direita do rio Negro para a alimentação durante o dia, e à medida que entardece vão migrando de volta para a área mais profunda do lago do Catalão (Mapa ponto 5). O não aparecimento de peixes de maior tamanho durante a coleta dos exemplares pode indicar que estes podem ser capazes de realizar migrações para lugares mais distantes em busca de alimento.

Estudo em campo utilizando o método “acústico passivo” permitiu monitorar a atividade da desova de uma agregação residente de *Cynoscion nebulosus* (Sciaenidae) por longo período de tempo na Bahia de Tampa, inferindo sobre o período reprodutivo que esta espécie apresenta (Walters et al., 2005).

Na pescada-branca foi observado que indivíduos entre 13.0 e 19.0 cm de comprimento padrão (CP) não é possível ouvir algum tipo de som, mas sim foi sentida uma leve vibração do músculo sonoro indicando possivelmente adultos iniciando o processo de maturação gonadal e a partir dos 19.0 cm de CP os sons produzidos pelas contrações do músculo sonoro começaram a ser audíveis. Em *A. japonicus* a produção de sons ocorreu em indivíduos a partir dos 18 cm de comprimento total, aumentando o nível e a duração do som com o crescimento corporal, e significativamente quando

alcançam o estágio de maturidade, esta diferença poderia ajudar a anunciar quando estão prontos para a desova ou o momento da liberação dos gametas (Ueng et al., 1999).

A produção de sons de alguns peixes também pode estar relacionada com a predação, agindo como um impedimento para a aproximação do predador (Vester et al., 2004). Possivelmente o mesmo acontece com a pescada-branca dentro do lago do Catalão com a presença do boto-rosa (*Inia geoffrensis*), podendo o som ser usado também com esta finalidade, já que a pescada-branca é a principal fonte de alimento (57%) desta espécie de cetáceo na Amazônia central (Best & Silva, 1993).

6. CONCLUSÃO

A utilização da cânula intra-ovárica foi efetiva para selecionar fêmeas aptas para a indução reprodutiva e para avaliar o processo de maturação dos ovócitos na pescada-branca. O manejo para a indução reprodutiva deve ser novamente analisado, devido aos danos apresentados pelos exemplares selecionados. A concentração de 1.4 ml de ovaprim/kg de peso vivo e 300 UI de hCG/kg utilizada nos testes parece ser efetiva na maturação dos ovócitos da pescada-branca.

O método acústico passivo pode ser usado para avaliar a época de reprodução e para aprimorar a metodologia de seleção de machos maduros para o procedimento de reprodução induzida, como também para identificar áreas de desova de *Plagioscion squamosissimus*.

7. BIBLIOGRAFIA

ADEBAYO O.T. & POPOOLA O.M., (2008). Comparative evaluation of efficacy and cost of synthetic and non-synthetic hormones for artificial breeding of African catfish (*clarias gariepinus*, Burchell 1822). *Journal of fisheries and Aquatic Science* 3(1): 66-71.

ALMEIDA, L., HAHAN, N. S., & VAZZOLER, A. (1997). Feeding patterns in five predatory fishes of the high Paraná River (PR, Brazil). *Ecology of Freshwater Fish*, 6, 122-133.

ANDRADE D. & YASUI G., (2003). O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, n.2, p.166-172.

BARTHEM R. B., 1987. Uso de redes de espera no estudo de ritmos circadianos de algumas espécies de peixes nos lagos de várzea do rio Solimões. *Rev. Bras. de Zool.* 3 (7): 409-422.

BATALHA S., (2009). Manejo de matrizes e acompanhamento da biologia reprodutiva da pescada-branca *Plagioscion squamosissimus* (Hackel,1840) em tanque-rede na comunidade do Catalão no município de Iranduba (Amazonas- Brasil). Dissertação de Mestrado, PPG-CIPET, UFAM. 61 p.

BENNEMANN, T. (2006). Dinâmica trófica de *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, Sciaenidae) em trechos de influência da represa Capivara (Rios Paranapanema e Tibagi). *Iheringia, Ser. Zool., Porto Alegre*, 96(1) , 115-119.

BEST R. & SILVA V., (1993). *Inia geoffrensis*. Mammalian Species, No 426, pp. 1-8, 3 figs.

BIALETZKI, A., NAKATANI, K., SANCHES, P., & BAUMGARTNER, G. (2004). Eggs and larvae of the ‘curvina’ *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Osteichthyes, Sciaenidae) in the Baía River, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Journal of plankton research Vol. 26* , 1327-1336.

BIENIARTZ K. & EPLER P. (1976) Preliminary results and ovarian resumption in carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fish Biology*, 8, 449-451

BRAGA, F. S. (1997). Biologia Reprodutiva de *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Sciaenidae) Na Represa de Barra Bonita, Rio Piracicaba (SP). *Revista UNIMAR* 19(2), 447-460.

BROL, F.F. (2006). Influencia do cultivo de *Brycon orbignyanus* em tanques-rede sobre a qualidade de água do reservatório da Usina Hidroelétrica Machadinho Florianópolis:

UFSC. Dissertação de Mestrado. Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.

CASATTI, L. (2005). Revision of the South American freshwater genus *Plagioscion* (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae). *Zootaxa* 1080 , 39-64.

CASATTI, L. (2002). Taxonomy of the South American genus *Pachypops* Gill 1861 (Teleostei: Perciformes: Sciaenidae), with the description of a new species. *Zootaxa* 26 , 1-20.

CASATTI, L., & CHAO, N. L. (2002). A new species of *Pachyurus* Agassiz 1831 (teleostei: Perciformes: Sciaenidae) from the Rio Napo basin, easter Ecuador. *Zootaxa* 38 , 1-7.

CERDÀ J., SELMAN K., HSIAO S., & WALLACE R., (1997). Evidence for the differential regulation of ovarian follicle responsiveness to human chorionic gonadotropin in vitro in a serranid teleost, *Centropristis striata*. *Aquaculture* 159, 143-157.

CERQUEIRA V.R. & TSUZUKI M.Y., 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiology Biochemistry* 35:17–28.

CHAO, N. L. (1978). A basis for classifying western Atlantic Sciaenidae (Teleostei: Perciformers). *NOAA Tech. Rep.* 415 , 1-64.

CONNAUGHTON, M. A., FINE, M. L., & TAYLOR, M. H. (2002). Weakfish sonic muscle: influence of size, temperature and season. *The Journal of Experimental Biology* 205 , 2183-2188.

CONNAUGHTON, M. A., FINE, M. L., & TAYLOR M.H., (1997). The effects of seasonal hypertrophy and atrophy on fiber morphology, metabolic substrate concentration and sound characteristics of the weakfish sonic muscle

CORDERO A, PERTUZ V. E SOLANO J., (2003) Reproducción inducida del Bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1878) con ovaprim®. MVZ-Córdoba 8:(2), 335

CRAWFORD, J. D., COOK, A. P., & HEBERLEINC, A. S. (1997). Bioacoustic behavior of African fishes (Mormyridae): Potential cues for species and individual recognition in Pollimyrus. *Acoustical Society of America* 102 (2) , 1200-1212.

CREPALDI D.V., FARIA P.M., TEIXEIRA E., RIBEIRO L.P., COSTA A.A., MELO D.C., CINTRA A.P., PRADO S., COSTA F.A., DRUMOND M.L., LOPES V.E., MORAES V.E., (2006). Utilização de hormônios na reprodução induzida do surubim (*Pseudoplatystoma spp*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal* v.30, n.3/4, p.168-173.

FAO, (2007). Cage Aquaculture – Regional reviews and global overviews. FAO fisheries technical paper 498.

FELIX R., SEVERI W., SANTOS J., EL-DEIR A., SOARES M. & NETO J., (2009). Desenvolvimento ovariano de *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Actinopterygii, Perciformes), no reservatório de Pedra, Rio de Contas, Bahia. *Biota Neotrópica*, vol. 9, no. 3.

GARCIA-ALONSO J. & VIZZIANO D., (2004). Induction of oocyte maturation in the white croaker *Micropogonias furnieri* (Pisces: Scieanidae) by Human Chorionic Gonadotropin. *Brazilian Journal of Biology*. 64(1):73-80.

GOMES, L.G.; BRANDÃO, F.B., CHAGAS, E. C., FERREIRA, M. F. B. & LOURENÇO, J. N. P., (2004). Efeito do volume do tanque-rede na produtividade de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante a recria. *Acta Amazônica*, v.34(1), 11-113.

GOULDING, M., & FERREIRA, E., (1984). Shrimp-eating fishes and a case of prey switching in Amazon rivers. . *Revista Brasileira de Zoologia* 2(3) , 85-97.

HARVEY B, CAROLSFELD J., (1993). Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa: IDRC. p.144.

HEYRATI F.P., MOSTAFAVI H., TOLOEE H., SALAR DORAFSHAN S., (2007). Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala6, Pro9-NEt) GnRH α combined with domperidone. *Aquaculture* 265: 288–293.

HILL, G. L., FINE, M. L., & MUSICK, J. A. (1987). Ontogeny of the sexually Dimorphic in Three Sciaenid species. *Copeia* (3) , 708-715.

HONG W., ZHANG Q. (2002). Artificial propagation and breeding of marine fish in China. *Chinese journal of Oceanology and limnology*. Vol. 20, n 1, p 41-51.

JAMRÓZ M., KUCHARCZYK D., KREJSZEFF S., KUJAWA R., KUPREN K., KWIATKOWSKI M., TARGOŃSKA K., CEJKO B, GLOGOWSKI J., (2008). Comparing the effectiveness of Ovopel, Ovaprim and LH-RH analogue used in the controlled reproduction of Ide, *Leuciscus idus* (L.). *Archives of Polish Fisheries Vol. 16 Fasc. 4* 363-370.

JIMÉNEZ M. T., PASTOR E., GRAU A., ALCONCHEL J., SÁNCHEZ R. & CÁRDENAS S. (2005). Revisión del cultivo de esciénidos en el mundo, con especial atención a la corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*. 21 (1-4): 169-175.

KUBITZA, F. (2000). *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. 1 ed. Jundiaí: F. Kubitza. 285p.

LAGARDÈRE, J., & MARIANI, A. (2006). Spawning sounds in meagre *Argyrosomus regius* recorded in the Gironde estuary, France. *Journal of Fish Biology Volume 69 Issue 6* , 1697.

LEITE, R. G., SILVA, J. V., & FREITAS, C. E. (2006). Abundância e distribuição das larvas de peixes no Lago Catalão e no encontro dos rios Solimões e Negro, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica Vol. 36(4)* , 557 – 562.

LUCZKOVICH, J. J., DANIEL, H. J., & SPRAGUE, M. W. (1998). *Characterization of critical spawning habitats of weakfish, spotted seatrout and red drum in Pamlico Sound using hydrophone surveys*. North Carolina : Division of Marine Fisheries.

LUCZKOVICH, J., MANN, D., & ROUNTREE, R. (2008). Passive Acoustics as a Tool in Fisheries Science. *Transactions of the American Fisheries Society* 137 , 533–541.

MANN, D. A., HAWKINS, A. D., & JECH, J. M. (2007). Active and Passive Acoustics to Locate and Study Fish. In J. F. Webb, R. R. Fay, & A. N. Popper, *Fish Bioacoustics* (p. 322). Hardcover: Springer.

MARTINS, C.R., J.L.F.O. POUHEY, B.S. VAZ E P.R.S. LOPES, (2008). Extração e rendimento da hipófise da *Cyphocharax voga* em relação à maturação gonadal e ao sexo. *Archivos de zootecnia* vol. 57, núm. 1, p. 4.

METWALLY M.A.A. & FOUAD I.M., (2008). Some Biochemical Changes Associated with Injection of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) with Oviaprim and Pregnyl for Induction of Artificial Spawning. *Global Veterinaria* 2 (6): 320-326, 2008.

MIRANDA A., BAZZOLI N., RIZZO E. & SATO Y., (1999). Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. *Tissue & Cell*, 1999 31 (5) 480–488

MOK, H.-K., YU, H.-Y., UENG, J.-P., & WEI, R.C., (2009). Characterization of Sounds of the Blackspotted Croaker *Protonibea diacanthus* (Sciaenidae) and Localization of Its Spawning Sites in Estuarine Coastal Waters of Taiwan. *Zoological Studies* 48(3) , 325-333.

NEGRÃO, J. N. C., (2006) Avaliação da atividade gonadal de machos e fêmeas de pescada branca (*Plagioscion squamosissimus*, Heckel, 1840) (Pisces, Teleostei, Sciaenidae), no rio Pará (PA). Tese de Doutorado, UFPA, 2006.

NWOKOYE C., NWUBA L. & EYO J., (2007). Induced propagation of African clariid catfish, *Heterobranchus bidorsalis* (Geoffrey Saint Hillarie, 1809) using synthetic and homoplastic hormones. *African Journal of Biotechnology Vol. 6 (23)*, pp. 2687-2693, 3 December.

OLUBIYI O., AYINLA O., ADEYEMO A., 2005. The effects of various doses of ovaprim on reproductive performance of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) and *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes). *African Journal of Applied Zoology & Environmental Biology*, Vol. 7, 101-105.

OHTA H., KAGAWA H., TANAKA H., OKUZAWA K., IINUMA N. & HIROSE K., (1997). Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica* *Fish Physiology and Biochemistry* 17: 163–169.

RAHMAN M., OHTA K., CHUDA H., NAKANO S., MARUYAMA K., & MATSUYAMA M., (2001). Gonadotropin-induced steroidogenic shift towards maturation-inducing hormone in Japanese yellowtail during final oocyte maturation. *Journal of Fish Biology* 58, 462–474.

RAINIS, S., MYLONAS, C., KYRIAKOU, Y., DIVANACH, P., (2003). Enhancement of spermiation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) at the end of the reproductive season using GnRH_a implants. *Aquaculture* 219:873-890.

RIOFRÍO J., (2009). Contribución al conocimiento de la biología de la corvina *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Sciaenidae) de Ucayali. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú; 20 (2): 339-344.

RODRIGUES L., QUEROL E. & BRACCINI M., (2005). Descrição morfo-histológica do ovário de *Acestrorhynchus pantaneiro* (Menezes, 1992) (Teleostei, Characidae), em seus diferentes estádios de desenvolvimento, na bacia do rio Uruguai médio, Uruguaiana, RS. *Biodiversidade Pampeana*, PUCRS, Uruguaiana, 3:11-18.

ROUNTREE, R., GILMORE, R. G., GOUDEY, C. A., HAWKINS, A. D., LUCZKOVICH, J., & MANN, D. (2006). Listening to fish: applications of passive acoustics to fisheries science . *Fisheries* 31 , 433–446.

SAHOO S. K., GIRI S. S., CHANDRA S., SAHU A., (2007). Spawning performance and egg quality of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction. *Aquaculture* 266. 289–292.

SIQUEIRA-SOUZA, F. K., BARBOSA, R. P. & FREITAS, C. E., (2006). Peixes do Médio Rio Negro: Uma abordagem ecológica. Manaus: EDUA.

SPECKER J. L. & SULLIVAN C. V. (1994). Vitellogenesis in fishes: status and perspectives. In: *Perspectives in Comparative Endocrinology*. pp. 304–315. Edited by K.G. Davey, R.E. Peter, and S.S. Tobe. National Research Council Canada, Ottawa.

SULLIVAN G., HIRAMATSU N., KENNEDY A., CLARK R., WEBER G., MATSUBARA T. & HARA A., (2003). Induced maturation and spawning: opportunities and applications for research on oogenesis. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 481–486.

UENG, J.-P., HUANG, B.-Q., & MOK, H.-K. (2007). Sexual Differences in the Spawning Sounds of the Japanese Croaker, *Argyrosomus japonicus* (Sciaenidae). *Zoological Studies* 46(1) , 103-110.

VAZZOLER A., 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. São Paulo: SBI/ EDUEM, 169p.

VEERAPPAN, N., PANDI, V., & BALASUBRAMANIAN, T. (2009). Sound Production Behaviour in a Marine Croaker Fish, *Kathala axillaris* (Cuvier). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1 (3) , 206-211.

VESTER, H. I., FOLKOW, L. P., & BLIX, A. S. (2004). Click sounds produced by cod (*Gadus morhua*). *Journal Acoustical Society of America* 115 (2) , 914-919.

ZAKI M.I., AZIZ F.K., EL-ABSAWY M.E-G., (2007). Induce spawning and larval rearing of gilthead sea bream (*sparus aurata*) collected from fish farms, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Research vol. 33 no. 1: 418-433.

WALTERS, S., LOWERRE-BARBIERI, S., BICKFORD, J., CRABTREE, L., & MANN, D. (2005). Preliminary results on seasonal and diel periodicities os a resident *Cynoscion nebulosus* spawning aggregation in Tampa Bay, Florida. *58th Gulf and Caribbean Fisheries Institute* (pp. 295-299). San Andrés - Colombia: Fort Pierce.

8. ANEXO – Tabela & Figuras

Tabela 1. Dosagem utilizadas em fêmeas de pescada-branca, grupo controle, e valores do Índice gonadosomático (IGS), comprimento padrão (CP), Peso total (Pt) e Peso da gônada.

Sexo	Indutor reprodutivo	Dosagem	n	IGS	CP (cm)	Pt (g)	Peso gônada (g)
Fêmeas	Ovaprim®	0.8 ml/kg	1	3.4	27.0	365.0	12.53
		1.4 ml/kg	2	6.0 ±0.6	33.0 ±5.7	703.5 ±385.5	40.9 ±17.1
	hCG	200 UI/kg	1	1.8	33.0	520.0	9.23
		300 UI/kg	1	2.6	33.0	600.0	15.52
		400 UI/kg	1	2.1	37.0	820.0	17.14
	Controle	-	6	2.8 ±1.0	27.5 ±7.7	607.5 ±267.5	15.5 ±5.0

Tabela 2. Dosagem utilizadas em machos de pescada-branca, grupo controle, e valores do Índice gonadosomático (IGS), comprimento padrão (CP), Peso total (Pt) e Peso da gônada.

Sexo	Indutor reprodutivo	Dosagem	n	IGS	CP (cm)	Pt (g)	Peso gônada (g)
Machos	Ovaprim®	0.1 ml/kg	3	0.6 ±0.1	31.7 ±2.1	556.7 ±70.2	3.4 ±0.9
		0.4 ml/kg	2	0.5 ±0.1	32.0 ±5.7	632.5 ±307.6	3.0 ±1.7
		0.8 ml/kg	1	0.7	33.0	680.0	4.92
	hCG	300 UI/kg	1	0.3	32.0	490.0	1.53
	Controle	-	3	0.3 ±0.1	31.7 ±1.2	508.7 ±31.7	1.50 ±0.2

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros dos “chamados” emitidos por machos de *P. squamosissimus* durante o manejo fora da água (sons de perturbação – SP), no tanque-rede (TR) e durante o período de águas altas (cheia) e baixas (seca).

Som	Pulsção (pulsos/ chamado)	Duração do chamado (s)	Frequência máxima (Hz)
Águas baixas (seca)	20,7 ±9,7	0,404 ±0,191	1886,0 ±221,9
Águas altas (cheia)	8,4 ±0,8	0,152 ±0,056	1383,4 ±114,4
Tanque-rede (TR)	14,2 ±7,4	0,258 ±0,136	1800,6 ±144,8
Sons de perturbação (SP)	9,3 ±4,0	0,211 ±0,097	1209,6 ±291,9

Tabela 4. Monitoramento das variáveis físico-químicas da água durante o período de junho (2009) a maio (2010), com os valores mensais do Potencial hidrogênico (pH), condutividade elétrica da superfície, temperatura (°C), Oxigênio dissolvido (O.D), e variação da cor da água em preta e branca.

2009/2010	T (°C)	OD (mg/l)	pH	Cond. (µs/cm)	Cor da água
Jun	29.8	3.7	6.6	113.2	Branca
Jul	30.7	5.1	6.3	99.4	Branca
Ago	30.9	5.5	5.8	95.8	Preta
Set	30.9	6.4	5.7	35.0	Preta
Out	32.5	6.7	5.3	19.8	Preta
Nov	33.3	6.1	5.0	14.8	Preta
Dez	31.9	4.9	5.3	17.3	Preta
Jan	32.2	4.8	4.8	21.3	Preta
Fev	31.1	4.7	4.3	27.0	Preta
Mar	33.4	5.1	6.1	43.0	Branca
Abr	29.8	4.6	5.6	45.3	Branca
Mai	29.4	2.8	6.1	84.0	Branca

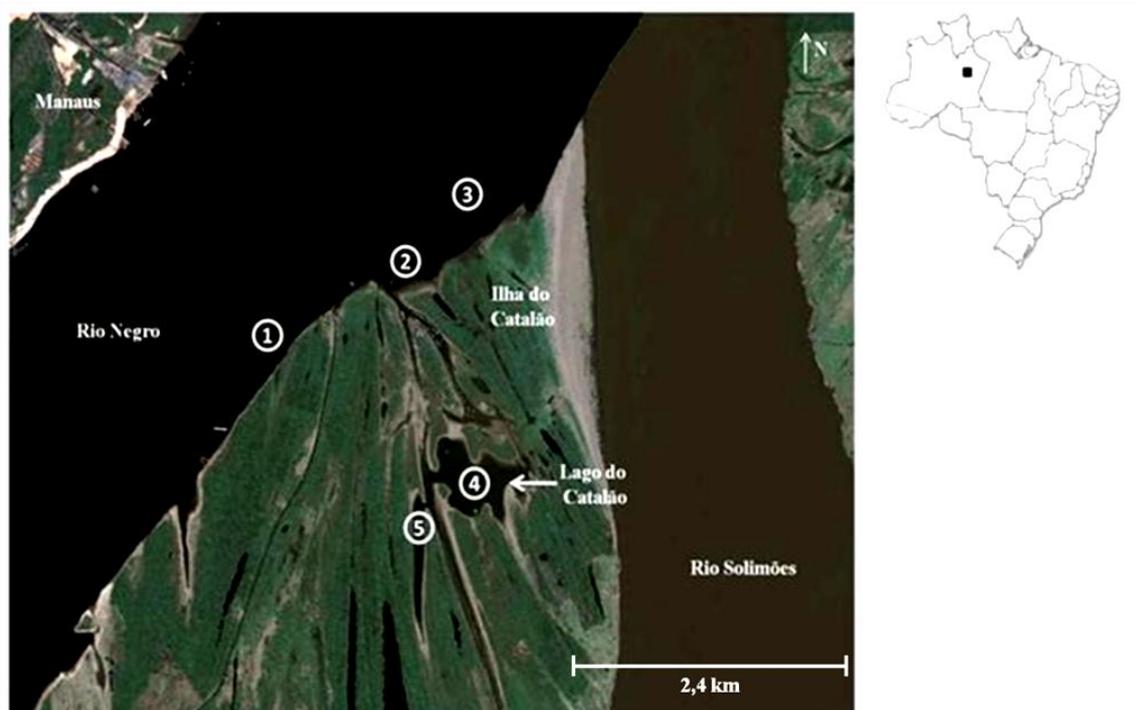


Figura 1. Distribuição da área de estudo, indicando pontos de coleta de sons da pescada-branca. (1) Canal Xiboreno, (2) Laboratório flutuante do projeto pescada (experimento de indução reprodutiva), (3) Ilha do Catalão, (4 e 5). Lago do Catalão. *Fonte: Google earth (período da seca de 2009).*



Figura 2. Método de canulação usado para avaliar o estado de maturação gonadal de fêmeas da pescada-branca (*P. squamosissimus*) criadas em tanque-rede.

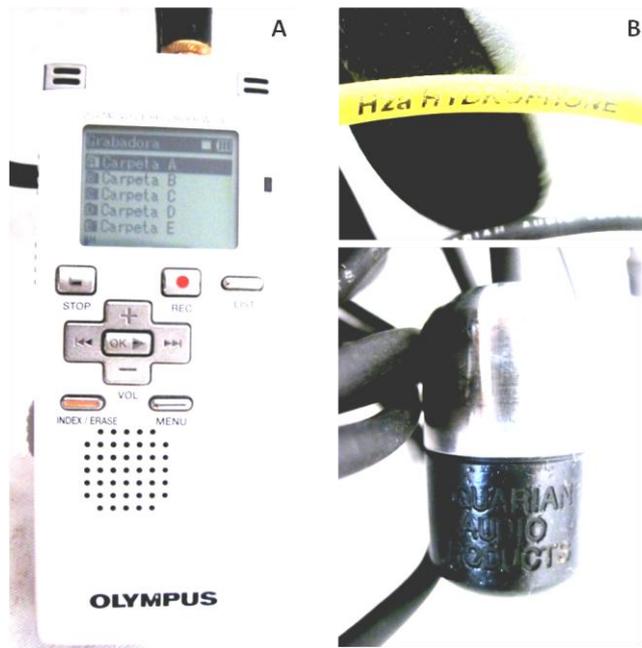


Figura 3. Equipamento utilizado para captar e gravar sons emitidos por machos de pescada-branca. (A) gravador digital e (B) hidrofone.

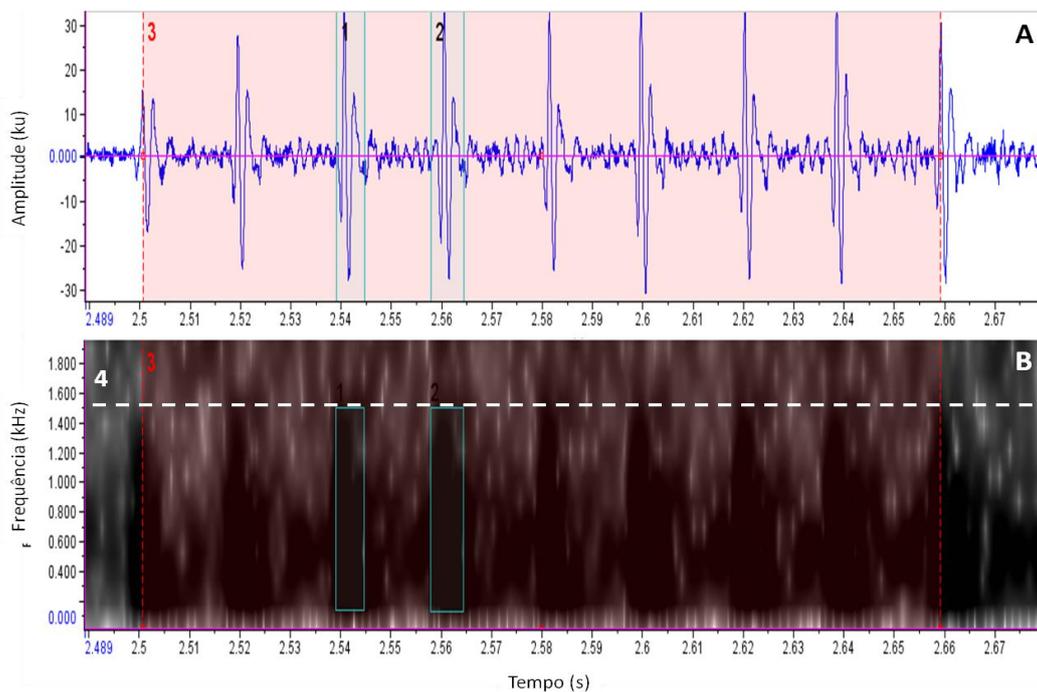


Figura 4. Variáveis utilizadas para caracterizar o som emitido por machos de *P. squamosissimus*, analisados no programa *Raven pro 1.4*. (A) Oscilograma e (B) sonograma ampliado onde área 1 e 2 indicam como o pulso e a frequência máxima foram determinadas, área 3 indica a medição da duração do chamado e 4 medição da frequência máxima (kHz). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.

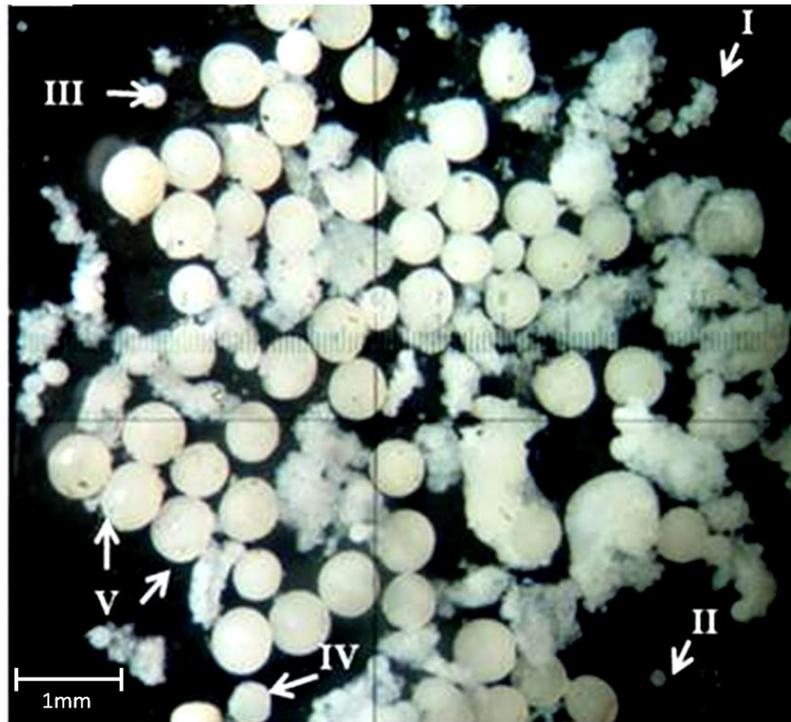


Figura 5. Fotografia digital da amostra de ovócitos coletada de uma fêmea de *P. squamosissimus* madura sexualmente. São observados ovócitos em várias fases de desenvolvimento (I a V).

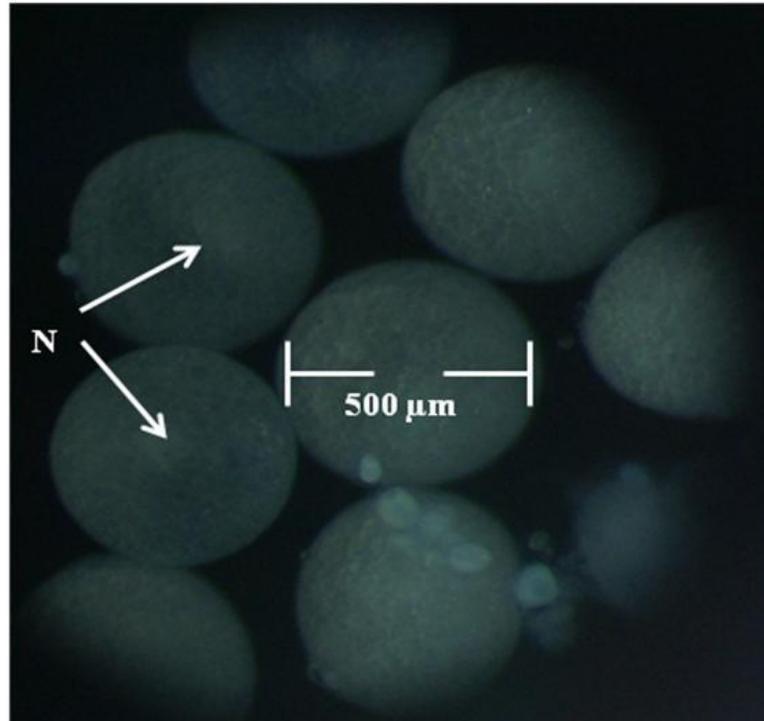


Figura 6. Fotografia digital dos ovócitos de *P. squamosissimus* em processo de maturação final (Fase V, ovócitos com 0.5 mm de diâmetro) com núcleo (N) em posição centra (fase IV) ou migrando (fase V) para a periferia do folículo.

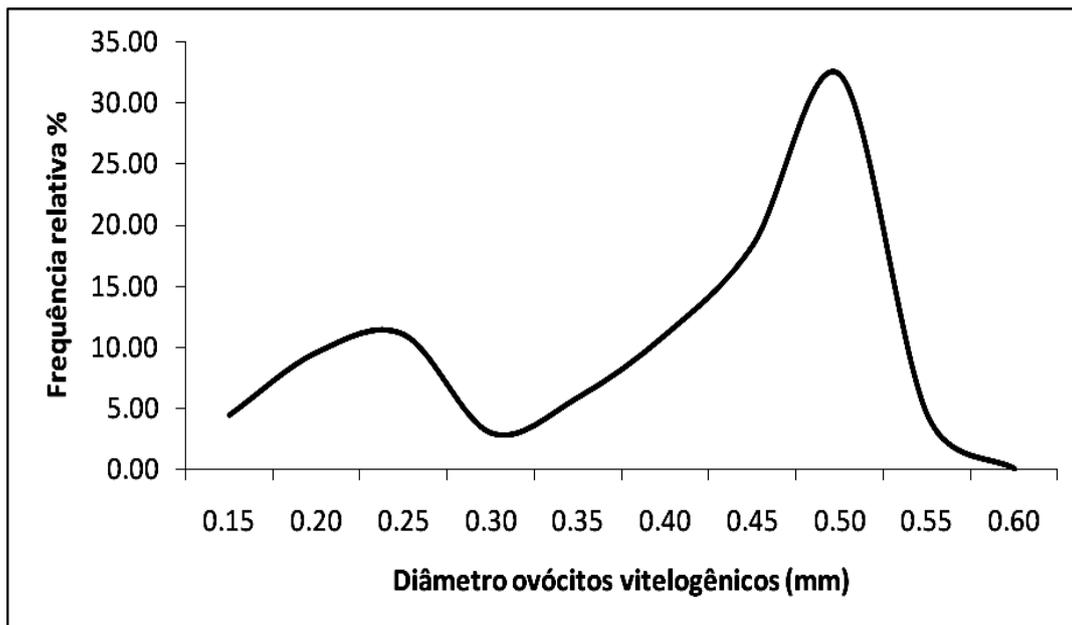


Figura 7. Frequência relativa padrão de classes de tamanho dos ovócitos encontrados em gônadas de fêmeas maduras de *P. squamosissimus* criadas em tanque-rede.



Figura 8. Exemplar *P. squamosissimus* após 3hrs. de aplicada a injeção apresentando coloração avermelhada do abdômen e rigidez, possivelmente devido ao manejo de seleção.

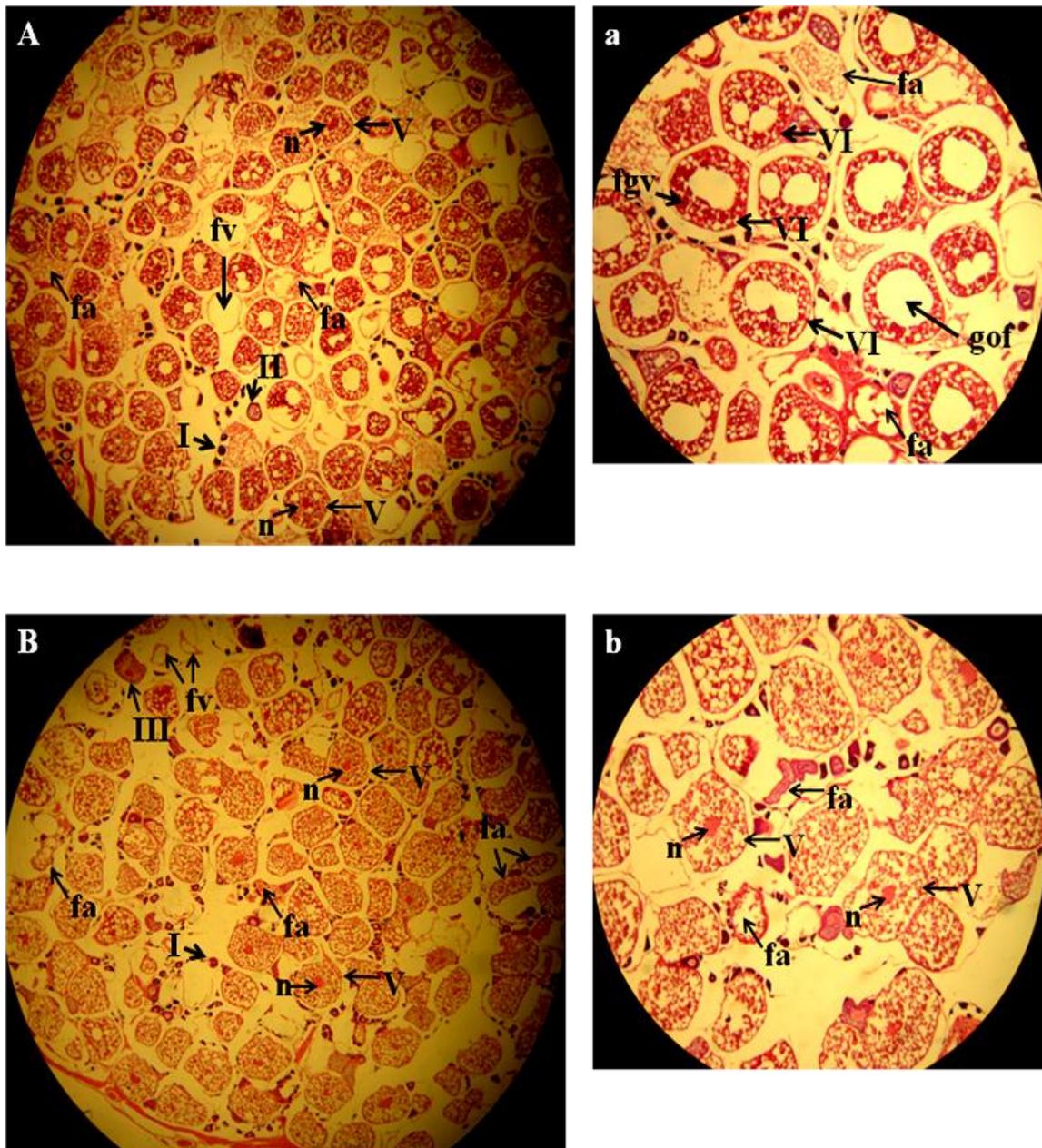


Figura 9. Fotografias de cortes histológicos de gônadas induzidas com Ovaprim, fêmeas A - 1.4 ml/kg e B - 0.8 ml/kg. n – núcleo; fa – folículo atrésico; gof – gotícula de óleo fusionada; fgv – Fusão das gotículas de vitelo; I a VI – Estádios de maturação dos ovócitos.

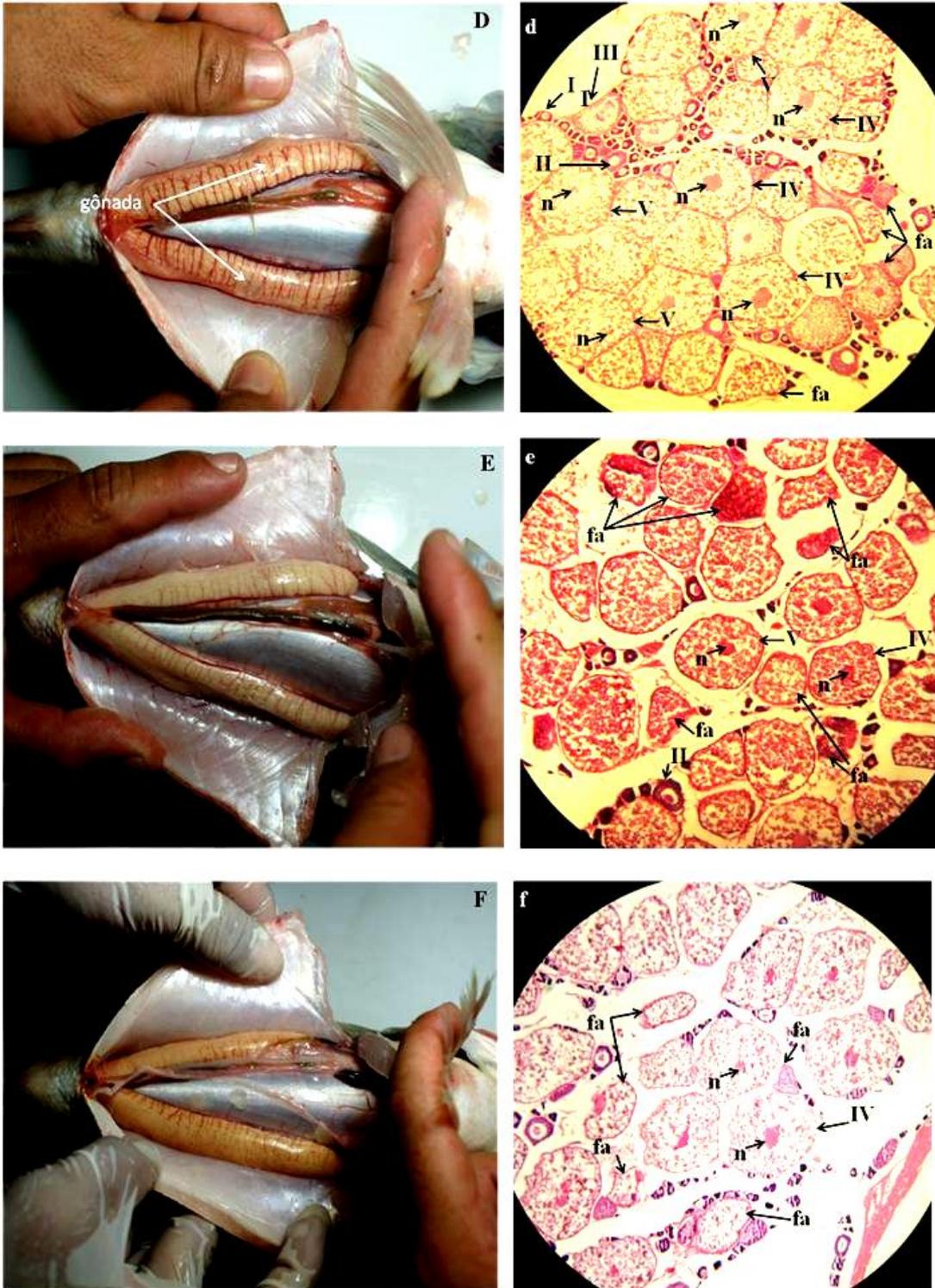


Figura 10. Fotografias das gônadas e de cortes histológicos de fêmeas induzidas com hCG, Fêmea D - 200 UI/kg, fêmea E - 300 UI/kg e F - 400 UI/kg. Aumento 10x. n - núcleo; fa - folículo atrético; I a V - Estádios de maturação dos ovócitos.

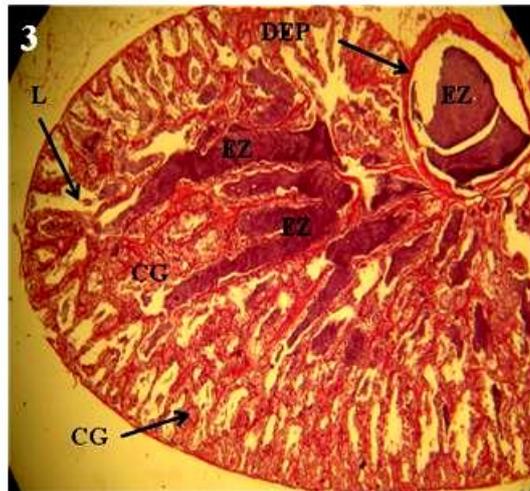
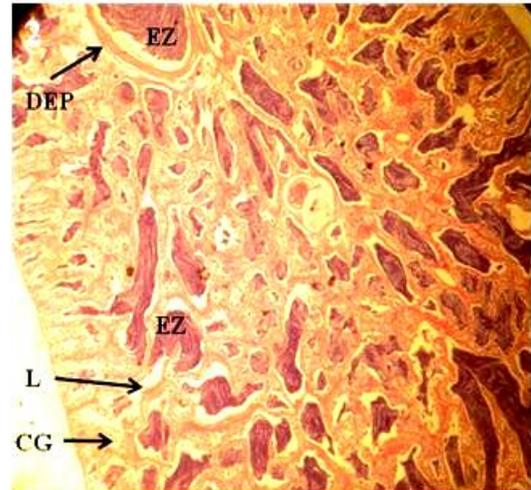
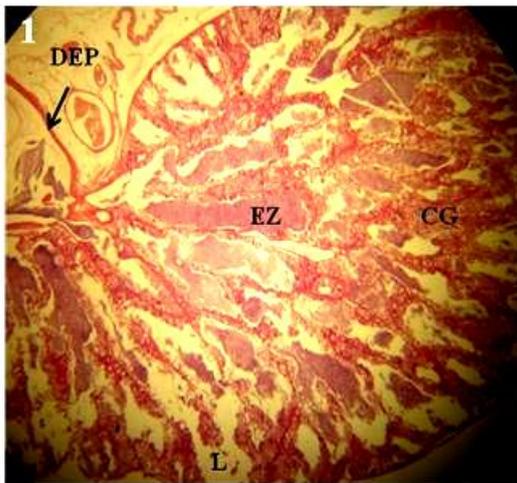


Figura 11. Fotografias de cortes histológicos de gônadas de machos induzidas com Ovaprim, macho: (1) dosagem de 0.1 ml/kg, (2) 0.4 ml/kg e (3) 0.8 ml/kg. Onde, DEP – Ducto Espermático Principal; EZ – Espermatozoides; L – Lúmen; CG – Células germinativas.

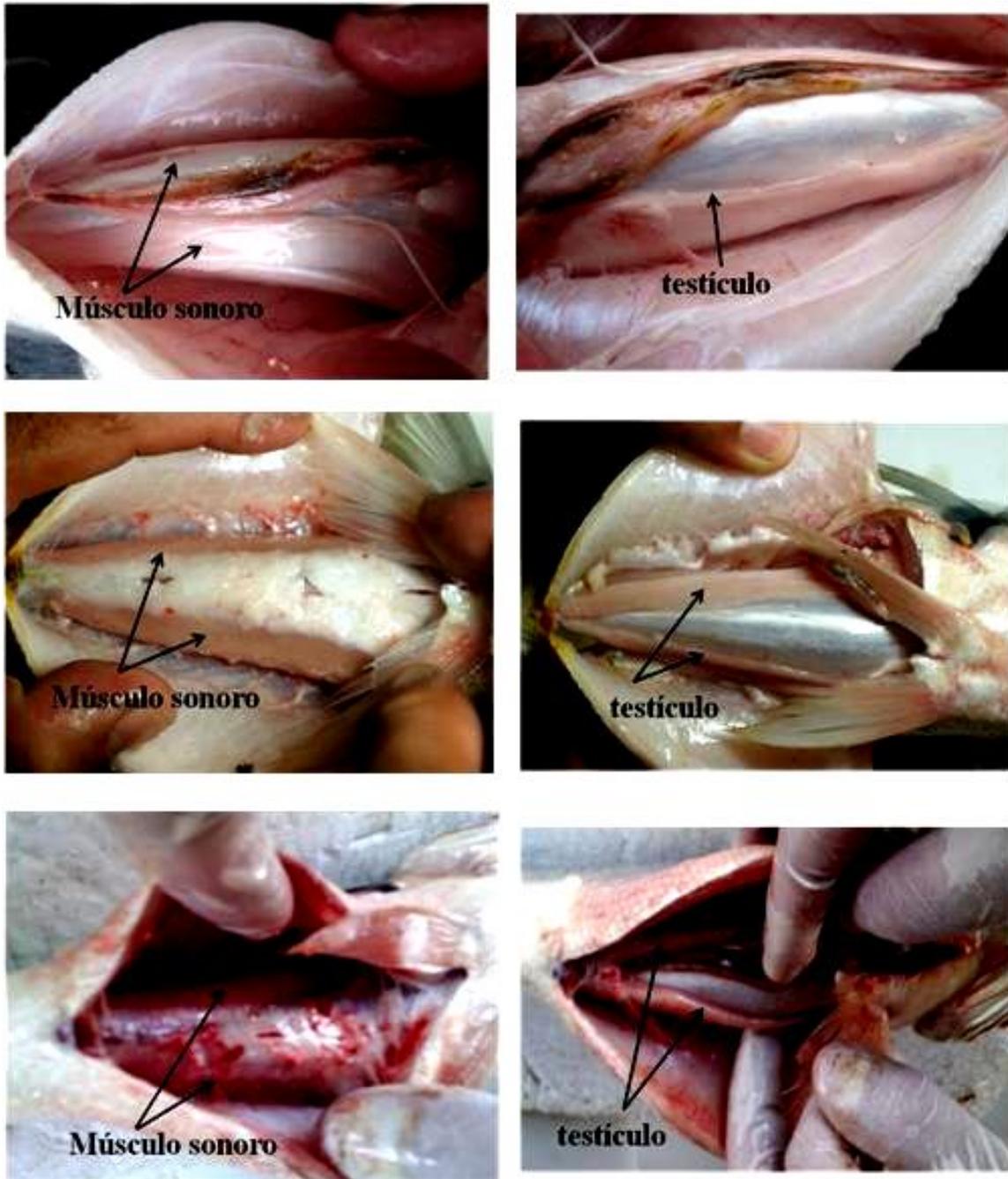


Figura 12. Sincronismo do desenvolvimento gonadal e do músculo sonoro em machos de *P. squamosissimus*, quando o músculo sonoro está totalmente desenvolvido envolve por completo a gônada e demais órgãos.

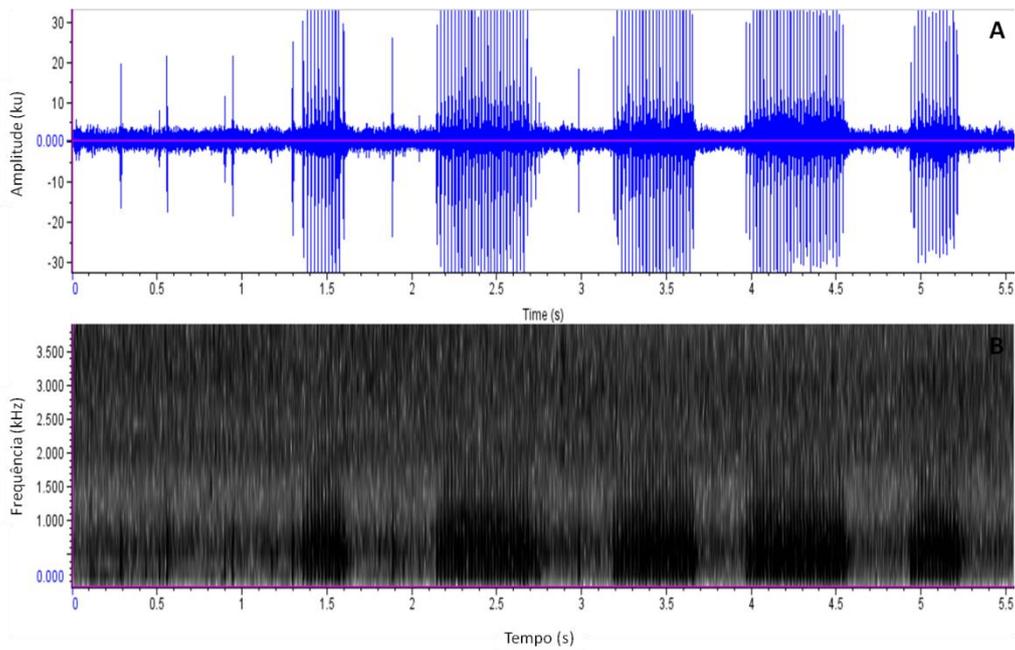


Figura 13. (A) Oscilograma e (B) sonograma durante o período de águas baixas (seca), onde se observa que ocorre um par de pulsos antes do chamado. Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.

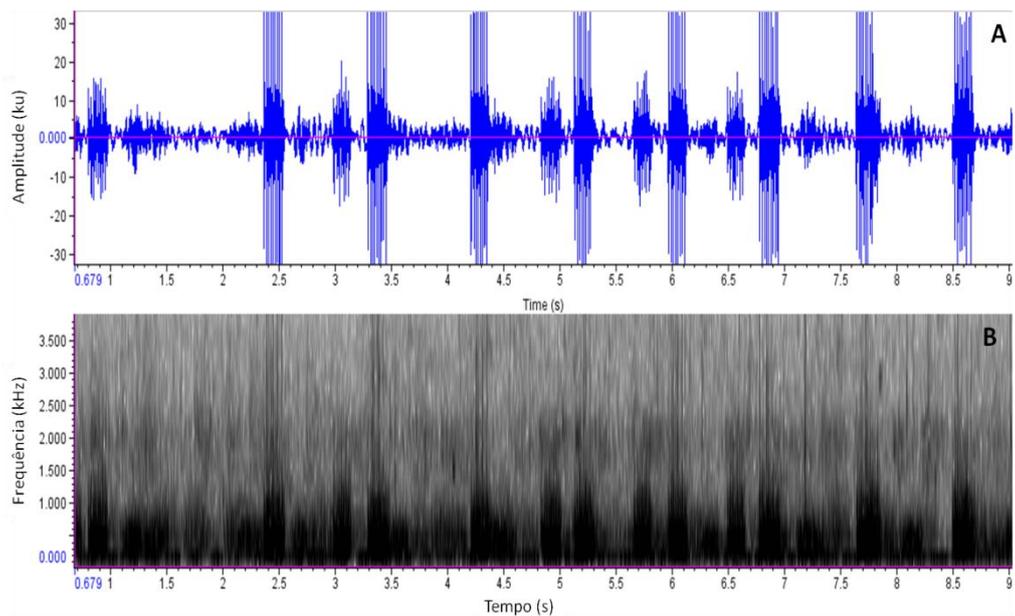


Figura 14. (A) Oscilograma e (B) sonograma durante o período de águas altas (cheia), onde pode ser observado mais de um indivíduo. Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.

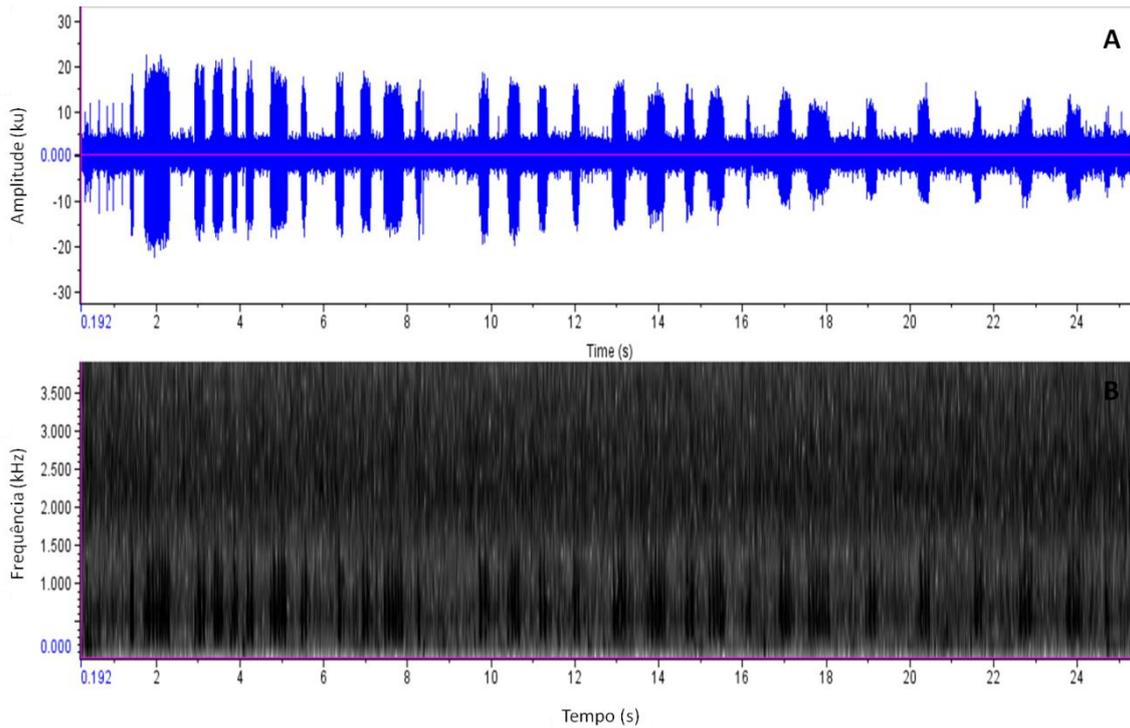


Figura 15. (A) Oscilograma e (B) sonograma dentro do tanque-rede, durante o período de águas baixas (seca). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.

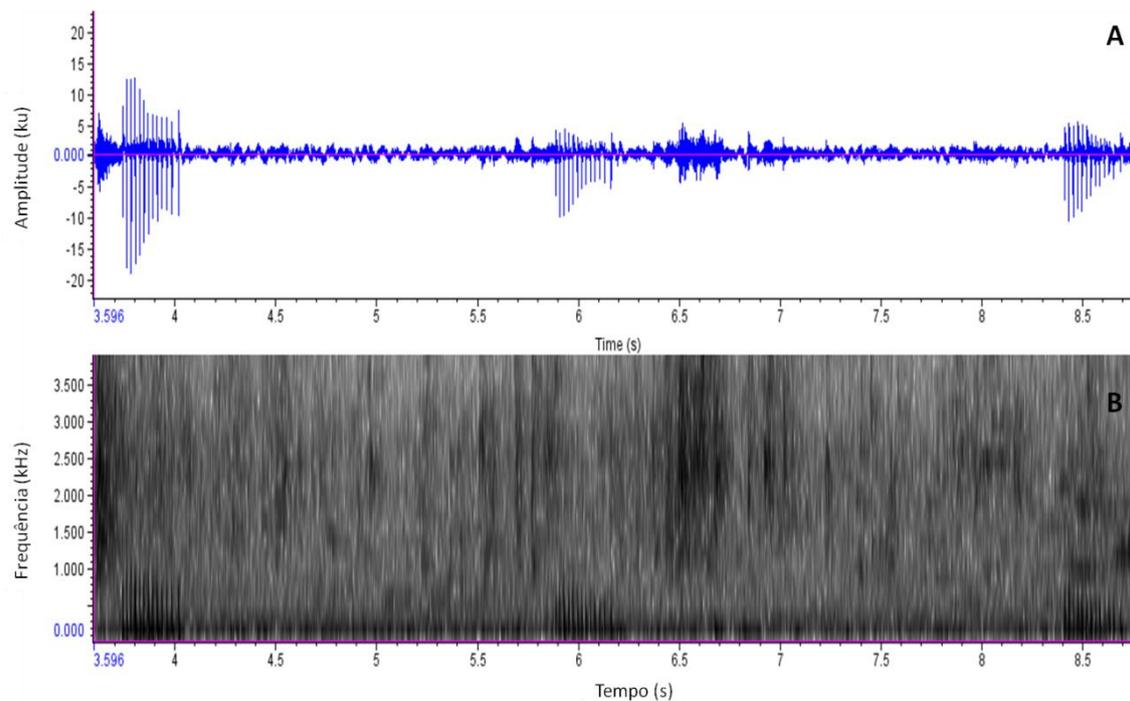


Figura 16. (A) Oscilograma e (B) sonograma dos sons gravados quando os indivíduos eram segurados na mão (sons de perturbação), durante o período de águas baixas (seca). Parâmetros do sonograma foram: tamanho de DFT de 256 e sobreposição de 96.9.

