



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

HISTOLOGIA DE GONADAS DE HÍBRIDOS DE SURUBINS EXPLORADOS COMERCIALMENTE

Milene Aguirre Aranda¹; Andrea Maria de Araújo Gabriel²; Fabiana Cavichiolo²; Arlene Ventura Sobrinho³; Carolina Queiroz Carollo⁴; Rafael Henrique Tonissi e Buschinelli de Goes²

¹ Bolsista de iniciação científica e aluna de graduação em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)/Dourados-MS

² Professor Doutor da FCA da UFGD/Dourados-MS

³ Técnica de Laboratório do Curso de Aquicultura, FCA, UFGD/ Dourados-MS

⁴ Aluna de graduação em Zootecnia pela UFGD

UFGD-FCA, C. Postal 533, 79804-970, Dourados-MS, e-mail: milene_aranda@hotmail.com

RESUMO

Com esta pesquisa, realizada entre agosto de 2013 a julho de 2014, foi efetuada a análise histológica de 31 gônadas de dois híbridos do peixe pintado, 15 animais híbridos do grupo I (híbrido I) e 16 animais híbridos do grupo II (híbrido II), com a finalidade de conhecer os padrões histológicos normais de gônadas das espécies de interesse comercial no Mato Grosso do Sul. Pretendeu-se também avaliar comparativamente a potencialidade reprodutiva destes híbridos. As coletas do material biológico, foram realizadas em fazenda de engorda proveniente de produção. Assim foram realizadas descrições microscópicas do testículo e ovário destes animais. No laboratório os peixes foram medidos, pesados, dissecados e as gônadas isoladas. O processamento histológico padrão foi realizado no laboratório de Morfologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, com coleta de fragmentos das gônadas que foram submetidos às técnicas de rotina para microscopia óptica, inclusão em parafina, cortes com espessura de 5µm e corados com Hematoxilina-Eosina. Confeccionado a lâmina histológica realizou-se a determinação microscópica dos estágios do ciclo reprodutivo dos animais baseando-se na distribuição de ovócitos e células da linhagem espermatogênica. Dos animais analisados foram encontrados 26 fêmeas (12 ovários do híbrido I e 14 do híbrido II) e 05 machos (03 testículos do híbrido

I e O2 do híbrido II). Através das análises microscópicas pode-se verificar a presença dos seguintes estágios do ciclo reprodutivo da fêmea: imaturo, início de maturação, maduro e maturação avançada. Já na avaliação dos machos pode-se identificar gônadas imaturas e em início da maturação. Após as avaliações pode-se concluir que os híbridos avaliados apresentam potencial reprodutivo desde que submetidos às condições reprodutivas necessárias.

Palavras-chave: avaliação histológica, fertilidade, reprodução.

INTRODUÇÃO

O gênero *Pseudoplatystoma* compreende os maiores peixes da família Pimelodidae, dentre as espécies estão *Pseudoplatystoma coruscans* (pintado), *Pseudoplatystoma fasciatum* (cachara). São espécies migradoras que se reproduzem no leito dos rios na estação chuvosa, com período reprodutivo curto, desova total ou única, não protegem a prole, liberam ovos livres, de coloração amarelada e a embriogênese ocorre rapidamente, ao redor de 16 horas com médias de temperatura de $23,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ (VAZZOLER, 1996; SATO, 1999).

Esses bagres possuem características zootécnicas e de mercado bastante atrativas, despertando grande interesse na utilização destes para a piscicultura (CURY, 1992), além de estarem entre as espécies que apresentam maior potencial de mercado para a aquicultura brasileira (TOLEDO, 1991).

No Brasil, os surubins ou pintados (*Pseudoplatystoma* spp.) são peixes de água doce de alto valor comercial, considerados produtos nobres por apresentarem carne saborosa, com baixo teor de gordura e ausência de espinhas intramusculares. Possuem, assim, grande importância econômica e social em suas regiões de ocorrência (CREPALDI, 2008). No ambiente natural, esse peixe demonstra um padrão migratório dentro do período de reprodução, o que reflete em algumas limitações quando se deseja reproduzir essa espécie em cativeiro (CREPALDI, 2006).

Dentro da piscicultura, o cultivo de híbridos tem recebido especial atenção, com o objetivo de aproveitar as características favoráveis das espécies parentais, bem como melhorar o seu desempenho para a exploração em cativeiro. Ou seja, a hibridação como técnica praticada em explorações aquícolas, pretende melhorar o nível de produção, de maneira que o sistema se torne mais competitivo e o produto final tenha maior aceitação por parte dos consumidores (BOTERO *et al.*, 2004).

Estas espécies estão sendo ameaçadas, por conterem cruzas inadequadas na natureza. Criadouros estão produzindo sem ter um cuidado adequado, o que leva animais originários destas mistura de raças a chegar na natureza, o que acabará acarretando a perda de animais puros. Esta possibilidade esta preocupando pesquisadores, porque esta situação poderá levar a um nível de contaminação genética extrema, com possibilidade de se perder as raças puras.

Através de estudos pode-se obter um maior conhecimento sobre os padrões histológicos de gônadas de peixes de espécies nativas do Mato Grosso do Sul, peixes híbridos de pintado e cachara que são de importância comercial no estado.

Estudos agrupando características morfológicas reprodutivas de peixes permitem comparar os padrões de história de vida das diferentes espécies. Estes estudos também possibilitam analisar as adaptações morfológicas do aparelho reprodutor de cada espécie frente às estratégias adotadas para alcançar o sucesso produtivo e reprodutivo. As características morfológicas do aparelho reprodutor, associadas às adaptações para a reprodução, definem padrões reprodutivos como os tipos de migração, fertilização, ovo, desova e cuidado parental, dentre outros. Atualmente a utilização da hibridação artificial em peixes como técnica que visa o desenvolvimento econômico é uma realidade, mas que pode acarretar problemas ambientais. Alguns pescadores associados da Colônia de Pescadores Artesanais Profissionais Z-10, MS relataram que pescaram alguns peixes e não conseguiram identificá-los como pintado ou cachara, pois pareciam uma 'mistura' das duas espécies. Relataram ainda que encontraram esses peixes principalmente no Rio Ivinhema, Dourados, Brilhante, Vacaria, Anhanduí e Lagoa Sérgio Mota, onde a probabilidade de escape do surubim híbrido de criadouros pode ser maior quando comparada a de rios que ocupam posição geográfica mais distante desses criatórios artificiais. Mediante a isso surgiu a ideia da realização dessas avaliações, objetivando verificar a possibilidade destes híbridos procriarem, e assim sensibilizar sobre o problema de contaminação genética em ambiente natural, explicar que as espécies puras de pintado e cachara podem vir a entrar em extinção com a presença dos animais híbridos nos rios.

Há outros relatos de híbridos sendo encontrados na natureza (ALVES *et al.*, 2007). Segundo Carvalho *et al.* (2008), os híbridos de surubim já vêm sendo encontrados na natureza (como no rio Paraná), provavelmente devido a escapes de pisciculturas.

Alguns pesquisadores, também, relatam que híbridos de *P. corruscans* com sua congênera *P. reticulatum* (cachara) estão sendo vendidos a produtores como “surubins puros” (CARVALHO *et al.*, 2008). Os aspectos biológicos e zootécnicos (reprodução, crescimento, caracterização genética, nutrição, entre outros) desse híbrido e seu impacto na fauna nativa e nos grupos cultivados ainda são desconhecidos.

Porém já foi verificado que estes híbridos podem apresentar fertilidade, sendo este um dos principais problemas dentro da reprodução devido a possibilidade de retrocruzamentos. Como exemplo pode-se citar os híbridos das espécies *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado) e *Pseudoplatystoma reticulatum* (cachara), que apresentam fertilidade parcial e são capazes de cruzar entre si e com as espécies parentais. Além disto, estes cruzamentos podem causar impactos ao meio ambiente, aumentar os riscos de contaminação genética e até mesmo a extinção das espécies parentais. Se os híbridos produzidos forem estéreis, como é comum na maioria dos casos, pode ocorrer a perda de material biológico (SARAVY *et al.*, 2010).

A reprodução nos teleósteos é complexa, o que se reflete na grande variedade de estruturas constituintes da gônada; no entanto, a morfologia das células germinativas e os elementos somáticos constituintes do tecido da gônada são semelhantes nas várias espécies. Todas estas estruturas se desenvolvem no sentido de produzir gametas férteis (ovos e esperma) necessários para a reprodução ter sucesso (HOAR *et al.*, 1983).

A classificação macro e microscópica dos diferentes estádios de maturação das gônadas é variável de acordo com diferentes autores. Tal variação é inerente às metodologias empregadas, refletindo em maior ou menor número de subdivisões. Basicamente, todas as classificações dos estádios de desenvolvimento gonadal seguem uma escala universal, modificada de acordo com as características específicas para cada grupo de espécies: estágio imaturo ou jovem, repouso, maduro, reprodução e reproduzido. Barbieri e Santos (1988) classificam o desenvolvimento ovárico em três estádios; Brito (2002), em quatro, já Teles e Godinho (1997), em até seis. Atualmente, conforme mencionado por Quagio-Grassiotto *et al.* (2013), após extenso trabalho de revisão na área, Brown-Peterson *et al.* (2011) apresentaram uma proposta para caracterização das fases reprodutivas dos teleósteos, a qual reúne os aspectos macro e microscópicos das gônadas ao longo do ciclo reprodutivo. Nessa proposta, são reconhecidas quatro fases sequenciais ao longo do ciclo reprodutivo dos indivíduos aptos à reprodução: Desenvolvimento; Apto à Desova/Liberação de Esperma; Regressão e Regeneração.

Assim objetivou-se analisar histologicamente amostras de gônadas em peixes híbridos, em fase reprodutiva, coletados em cativeiro de modo a fornecer informações precisas sobre a produção de pintado e seus híbridos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi executado na Universidade Federal da Grande Dourados, no período compreendido entre agosto de 2013 a julho de 2014, no Laboratório de Morfologia Animal da Faculdade de Ciências Agrária. As coletas de material biológico, híbrido I e híbrido II de *Pseudoplatystoma* spp., foram realizadas em fazenda de engorda.

Para análise microscópica foram utilizados 15 exemplares de híbrido I e 16 de híbrido II, dos quais os fragmentos das gônadas coletados foram fixados em solução de Bouin aquoso por aproximadamente 24 horas, transferidos para álcool 70% para conservação até o emblocagem. Este processo consiste em uma desidratação por passagens em álcool em graduação crescente (70 até 100%), uma diafanização em Xilol, impregnação em parafina, emblocagem.

Para a confecção das lâminas, foram realizados cortes seriados, sempre em duplicatas, com aproximadamente 5µm de espessuras. Todos os cortes foram corados pela coloração histológica padrão de HE (Hematoxilina- eosina), seguindo metodologia de Michalany (1990). Após coloração as lâminas foram montadas com balsamo de piermount e lamínula, técnica utilizada para a montagem de lâminas permanentes.

Na análise das lâminas foi feita uma descrição das características obtidas em observação por meio de microscopia de luz e utilização de um sistema computadorizado de captura e análise de dados com possibilidade de medições.

A determinação microscópica dos estágios do ciclo reprodutivo dos animais foi baseado na distribuição de ovócitos e células da linhagem espermatogênica de acordo com Brito (2002).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram analisadas gônadas de 26 fêmeas (12 ovários do híbrido I e 14 do híbrido II) e de 05 machos (03 testículos do híbrido I e 02 do híbrido II) (tab. 1).

Histologicamente, os ovários são revestidos pela túnica albugínea, e esta é constituída de tecido conjuntivo, fibras musculares lisas e vasos sanguíneos, esta túnica

emite septos em direção ao estroma, formando lamelas ovulíferas (ninhos), nas quais encontram-se ovócitos nas diferentes fases do desenvolvimento (fig. 1). Os ovários de correspondem ao tipo cistovariano e em seu interior há lamelas que contêm ovócitos em seus distintos estádios de desenvolvimento.

O estroma dos testículos é constituído por tecido conjuntivo, onde localizam-se agrupamentos de células da linhagem espermatogênica, os espermocistos (fig.2).

Através das análises microscópicas, seguindo a classificação de Brito (2002) e Brown-Peterson *et al.* (2011), pode-se verificar a presença dos seguintes estágios do ciclo reprodutivo da fêmea: imaturo, início de maturação (desenvolvimento), maduro (apto a liberar gameta) e maturação avançada (desova ativa). Já na avaliação dos machos, seguindo os mesmos autores acima mencionados, pode-se identificar gônadas imaturas e em início da maturação. Segundo Brito (2002) e Brown-Peterson *et al.* (2011), as fases reprodutivas nas fêmeas são definidas principalmente com base nos estágios do desenvolvimento ovocitário. Nos machos, a caracterização histológica das fases reprodutivas tem por base as alterações que ocorrem no epitélio dos túbulos seminíferos ao longo do ciclo reprodutivo, considerando a presença ou ausência de espermatocistos e o tipo de células germinativas contidas nos espermatocistos presentes.

Tabela 1. Características morfológicas das gônadas de híbridos de *Pseudoplatystoma* spp

Animais	Fase gonadal	Fêmea (n)	Macho (n)
Híbrido I	Início de maturação	2	3
	Madura	8	---
	Maturação avançada	2	---
Híbrido II	Imaturo	1	1
	Início de maturação	11	1
	Madura	2	

n = número de animais

Ao observar a tabela 1, verifica-se que os animais híbridos do grupo I estavam mais avançados no seu ciclo reprodutivo comparados aos híbridos II.

Este estudo permitiu verificar também que ocorrem por vezes incorreções na identificação macroscópica, em função da observação histológica mostrar características que não são identificáveis macroscopicamente podendo até invalidar esta identificação.

CONCLUSÃO

Com relação aos estudos histológicos realizados, foi possível concluir que esses animais híbridos, em especial as fêmeas híbridas do grupo I, são capazes de desovarem se tiverem as condições reprodutivas favoráveis.

Mais estudos deverão ser realizados para fornecer subsídios para um manejo adequado, fiscalização e monitoramento de projetos que envolvam a hibridação, assim como em diretrizes de conservação biológica, a fim de evitar os possíveis impactos destes híbridos nas populações naturais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.; VIEIRA, F.; MAGALHAES, A.; BRITO M. Impacts of non-native fish species in Minas Gerais, Brazil: present situation and prospects. In: Bert TM (Ed.). **Ecological and genetic implications of aquaculture activities, reviews: Methods and technologies in fish biology and fisheries**. Dordrecht: Springer, 2007. p.291-314.

BARBIERI, G.; SANTOS, E.P. Análise comparativa do crescimento e de aspectos reprodutivos da piava, *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) da represa do Lobo e do rio Mogi-Guaçu, estado de São Paulo. **Ciência e Cultura**, n.40, p.693-697, 1988.

BOTERO, M. *et al.* Descripción del desarrollo embrionario de zigotos híbridos obtenidos por el cruce de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). **Rev. Col. Cienc. Pec.**, Medellín, v. 17, p. 38-45, 2004.

BRITO, M.F.G. **Reprodução do surubim *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) (Pisces: Pimelodidae) do rio São Francisco, na região de Pirapora, Minas Gerais**. 2002. 50f. Dissertação (Mestrado em Zoologia de Vertebrados) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

BROWN-PETERSON, N.J.; WYANSKI, D.M., SABORIDO-Rey, F.; MACEWICZ, B.J.; LOWERRE-Barbieri, S.K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Mar Coast Fish** [online serial], v.3, p.52-70, 2011.

CARVALHO, D. C.; SEERIG, A.; MELO, D. C.; SOUZA, A. B.; PIMENTA, D.; OLIVEIRA, D. A. A. O. Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.). **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.32, n.4, p.215-219, out./dez. 2008.

CREPALDI, D. V. **Ultra-sonografia em surubins (*Pseudoplatystoma corruscans*): avaliação de parâmetros reprodutivos e características de carcaça**. 2008. 59f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2008.

CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; , TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P.R.; PRADO, S.A.; COTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V.E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.159-167, jul./dez. 2006

CURY, M.X. **Cultivo de pintado e cachara**. 13. ed. Rio de Janeiro: Panorama da Aqüicultura, 1992. p. 8-9.

HOAR, W.S.; RANDAL, D.J.L; DONALDSON, E.M. (Ed.) **Fish Physiology, Vol. IX – Reproduction. Part A – Endocrine Tissues and Hormones**. Ed. W.S. Hoar, Academic Press, New York and London, 1983. p. 223-275.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. São Paulo, Edusp, XVT+240p, 1990.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.181-191, abr./jun. 2013

SARAVY, T.M.; CAVICHIOLO, F.; BALDO, G.A.A.; MORAES, J.F.L.; GABRIEL, A.M.A.; PAZ, I.C.L.A. Morfologia de gônadas de híbrido de pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum x Pseudoplatystoma corruscans*) provenientes de cultivo na Região da Grande Dourados. In: ENEPE, 2010, Dourados. 1 Encontro de

Ensino de Graduação, 4 Encontro de Iniciação Científica, 3 Encontro de Pós-graduação e 4 Encontro de Extensão. Dourados: Editora UFGD, 2010. p. 1-8.

SATO, Y. **Reprodução de peixes da Bacia do Rio São Francisco: indução e caracterização de padrões.** 1999. 179 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

TAYLOR, R. G.; GRIER, H. J.; WHITTINGTON, J. A. Spawning rhythms of common snook in Florida. **J. Fish Biol.**, v.53, p.502-520, 1998.

TELES, M. E. O.; GODINHO, H. P. Ciclo reprodutivo da pirambeba *Sertrasalmus brandtii* (Teleostei: Characidae) na represa de Três Marias, Rio São Francisco. **Rev Bras Biol**, v.57, p.177-184, 1997.

TOLEDO, L. R. Novo hóspede nos açudes. **Rev. Globo Rural**, Rio de Janeiro, p. 55-61, 1991.

VAZZOLER, A. E. A .M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.** Maringá: EDUEM, 1996.196p.

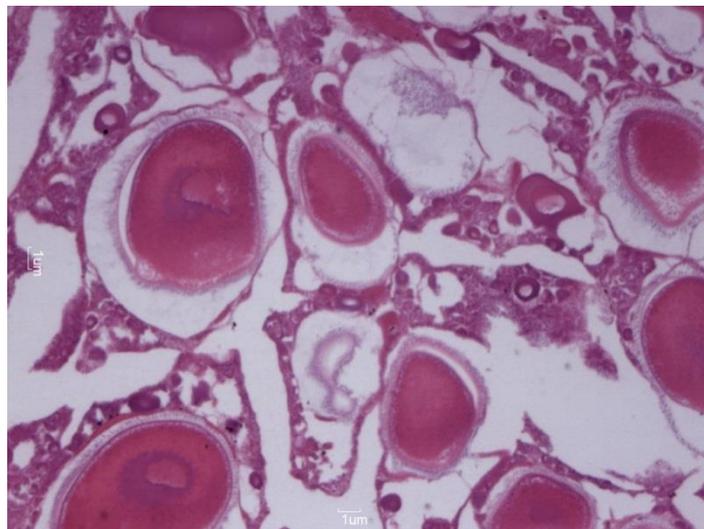


Figura 1: Fotomicrografia de secção de ovário de peixe híbridos de surubim coletados em fazenda de engorda proveniente de produção, Dourados, MS, Coloração HE.

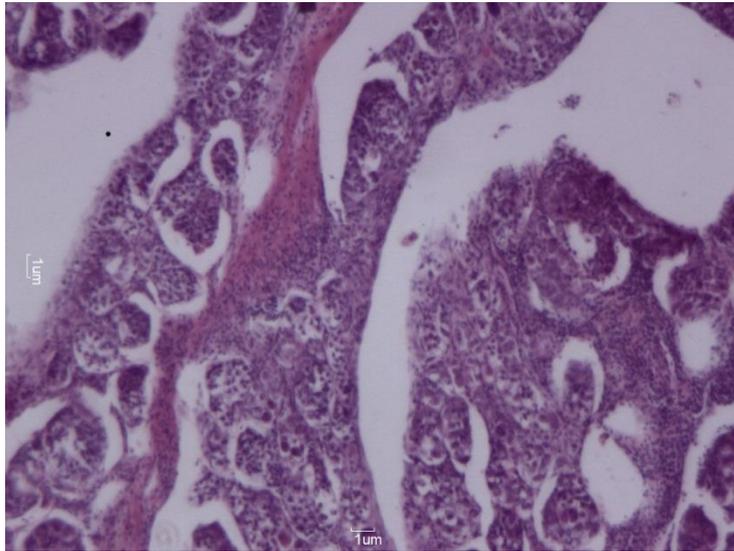


Figura 2: Fotomicrografia de secção de testículo de peixes híbridos de surubim coletados em fazenda de engorda proveniente de produção, Dourados, MS, Coloração HE.