

**Possibilidades da exploração comercial de peixes reofilicos em cativeiro: Uma Revisão
Raimundo Bezerra da Costa¹; Ronaldo de Oliveira Sales²; Rodrigo Maggioni³; Dea Lima
Vidal¹, José Oriani Farias¹**

RESUMO: A maioria das espécies de peixes criadas em cativeiro apresenta alguma forma de disfunção reprodutiva. Nas fêmeas podem aparecer falhas de maturação final dos óvulos, da ovulação e da desova; enquanto nos machos ocorre uma diminuição na produção do sêmen e na sua qualidade. Essas disfunções surgem em função da modificação das condições naturais de reprodução dos peixes em cativeiro, oriundas da falta dos estímulos externos necessários à indução da pituitária para liberação de gonadotrofinas. Na superação desses distúrbios são utilizados os hormônios da reprodução há mais de cinquenta anos, inicialmente como extratos hipofisários, para estimular os processos reprodutivos da espermiogênese, indução da ovulação e desova. Mais recentemente os hormônios derivados de peixes e de mamíferos, como as da carpa, salmão e coriônica humana, e o emprego de novos métodos, com os fatores liberadores de gonadotrofinas (GnRH), que induzem a liberação da própria gonadotrofina da pituitária diminuindo as falhas observadas nas criações em cativeiro. O desenvolvimento de agonistas sintéticos de GnRH (GnRHa), altamente potentes, constituem as novas gerações das terapias de manipulação hormonal, criando novas possibilidades com o uso de hormônios para o controle dos processos reprodutivos na aquicultura. Os produtos desenvolvidos mais recentemente incorporam o GnRHa em sistema polimérico de liberação longa, com os efeitos do hormônio se estendendo por períodos amplos que duram dias e até semanas. Esses sistemas eliminam a necessidade de múltiplos tratamentos, além de induzirem o desenvolvimento das células germinativas e a sincronização de desovas múltiplas. As diferentes formas de GnRH encontradas recentemente e seu melhor conhecimento certamente serão amplamente utilizados na terapia da desova. Novas estratégias devem ser desenvolvidas para possibilitar uma melhor obtenção da desova, possivelmente com pesquisas que venham corrigir os níveis de GnRH circulante.

Palavras-chave: hormônios da reprodução; gonadotrofinas; extrato hipofisário; fatores liberadores.

Possibilities of commercial exploitation of rheophilic fish in captivity: A Review.

Abstract: The majority of fish species reared in captivity presents some form of reproductive dysfunction. In females may appear failures of final maturation of the ova, ovulation and the spawning; while in males occurs a decrease in the production of milt and in its quality. These dysfunctions appear due to the modification of the natural conditions of reproduction of the fish in captivity, originated from the lack of external stimuli needed for induction the pituitary to release of gonadotropins. In overcoming these disturbances have been used the hormones of reproduction for over fifty years, initially as pituitary extracts to stimulate the reproductive processes of spermiation, ovulation induction and spawning. More recently the hormones derived from fish and mammals, such as the carp, salmon and chorionic gonadotropin, and employment of new methods, with the factors releasers of gonadotropins (GnRH), which induce the release of gonadotropin own pituitary decreasing the markest failures in creations in captivity. The development of synthetic agonists of GnRH (GnRH_a), highly powerful, consist of the new generations of therapies to hormonal manipulation, creating new possibilities with the use of hormones for the control of reproductive processes in aquaculture. The products developed more recently incorporate the GnRH_a in polymeric system release long, with the effects of the hormone extending by extensive periods that last for days and even weeks. These systems eliminate the need for multiple treatments, in addition to induce the development of germ cells and the synchronization of multiple spawns. These different forms of GnRH recently found and their better knowledge certainly will be widely used in therapy for spawning. New strategies must be developed to enable a improve achievement of spawning, possibly with research to correct levels of GnRH rolling stock.

Keywords: hormones of reproduction. Gonadotropins. pituitary extract. factors releasers.

¹ **Laboratório de Genética e Reprodução em Peixes Dulciaquícolas
LaGePe/NUGEN-FAVET-UECE**

² **Departamento de Zootecnia do CCA/UFC**

³ **Laboratório de Ciências do Mar - LABOMAR-UFC**

1. INTRODUÇÃO

As espécies de peixes migradores ou reofílicos caracterizam-se por deslocamento ao longo dos rios nas enchentes para realizar sua reprodução que ocorre em um curto período da estação chuvosa. Quando em cativeiro seu processo reprodutivo pode ser controlado por manipulações do ambiente, como fotoperíodo, alterando a temperatura da água ou introduzindo substratos para desova. Porém, existem outros fatores limitantes à sua exploração que se relacionam à biologia interna, como essa necessidade de deslocamento contra a correnteza para realizar a desova. Nessa situação torna-se necessária a utilização de produtos exógenos, os hormônios, capazes de promover a reprodução e fertilização dos óvulos produzidos. Esses hormônios, ou extratos hipofisários, podem ser utilizados como uma ferramenta no aumento da eficiência da produção de óvulos e da espermiacção, além de melhorar o processo de fecundação e crescimento da cria. Assim, nesse manejo de criação pode utilizar-se somente da manipulação nas condições do ambiente ou pode também incluir o uso dos hormônios exógenos. Neste último caso, há uma necessidade no conhecimento adequado do tipo de

hormônio, do estágio de desenvolvimento dos gametas, maturação final, desova e dos protocolos utilizados para sua administração (SOUZA et al., 2009). Dessa forma, nesse trabalho busca-se rever e entender os conceitos atuais e as condições essenciais na manipulação dos mecanismos reprodutivos que venham aumentar a exploração dos peixes em cativeiro, incrementando o grande potencial regional produtivo dos peixes de água doce, que venham proporcionar ao consumidor um aumento na produção de proteína de alto valor biológico e nutricional.

2. DESENVOLVIMENTO

GONADAL E CONTROLE HORMONAL

2.1. Entendendo o ciclo reprodutivo em peixes

A reprodução em peixes baseia-se em um sistema de controle neuroendócrino que envolve o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, sendo iniciado por estímulos ou fatores externos (variações de temperatura, chuvas e interações sociais dentre outros). O hipotálamo ao ser estimulado comunica-se com a hipófise, através dos seus neurônios, enviando projeções de fibras neurosecretoras responsáveis pela produção e liberação de neuropeptídios

primários que regulam a reprodução (hormônios liberadores de gonadotrofinas, GnRH). A glândula hipófise, ou pituitária, consiste da adenohipófise (lobo anterior) e da neurohipófise (lobo posterior), com a adenohipófise representando a parte glandular por conter diferentes tipos celulares que secretam hormônios. Nos vertebrados, incluindo os peixes, no lobo anterior são encontradas as corticotrofinas (células ACTH), as mamotrofinas (células prolactinas, células PRL), as somatotrofinas (células do hormônio do crescimento, células GH), as tireotrofinas (células TSH) e as gonadotrofinas (células LH/FSH) (OLIVEREAUE BALL, 1964). A atividade destes diferentes componentes estabelece uma comunicação permanente e sincronizada do hipotálamo-hipófise com os órgãos da periferia, as gônadas, que são cruciais na coordenação das suas respostas.

O GnRH foi identificado como o principal fator hipotalâmico controlador das gonadotrofinas da pituitária nos mamíferos e na maioria de outros vertebrados (AMOS *et al.*, 1971; MATSUO *et al.*, 1971; Suzuki *et al.*, 1988b; SANTOS *et al.*, 2011). Nos peixes são produzidos dois tipos de gonadotrofinas (GtH), GtH-I e GtH-II,

que apresentam diferenças consideráveis na estrutura e no papel químico: GtH-I (ou FSH), envolvida nos estágios iniciais da gametogênese (espermatogênese e vitelogênese) e GtH-II (ou LH) que influencia a espermiacão e a maturação final do ovócito (MYLONAS *et al.*, 1996; SCHULZ E MIURA, 2002). Por outro lado, observou-se que em teleósteos essa ação estimuladora das GtHs pode ser impedida por uma potente ação inibidora realizada pela dopamina-DA (ZOHAR *et al.*, 2010). Esse neuropeptídeo é sintetizado a partir da tirosina e constitui um sistema bem desenvolvido nos peixes teleósteos, com os receptores pertencendo à família daqueles acoplados à proteína G (GPCR) (DUFOUR *et al.*, 2010). Nesse controle, foram observadas duas classes principais desses receptores que diferem por sua habilidade em ativar (D1) ou inibir (D2) a enzima adenilatociclase, com cada uma dessas classes contendo vários subtipos (KEBABIAN & CALNE, 1979; CARDINAUD *et al.*, 2008; ZOHAR *et al.*, 2010). Em estudos recentes esses receptores mostraram que a DA atua diretamente no controle da liberação das gonadotrofinas utilizando os receptores D2 (KIM *et al.*, 2011). Contudo, para algumas espécies o papel dessas catecolaminas ainda continua

controverso quanto ao entendimento de como elas modulam a liberação de GtH, como relataram VAN DER KRAAK *et al.* (1986) após a administração de um análogo do hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH). Já BILLARD *et al.* (1984) demonstraram que um antagonista da DA podia aumentar a concentração de GtH no plasma. Como se observa no exposto anteriormente, o conhecimento adequado dos mecanismos e do papel do GnRH, da secreção de dopamina, do *feedback* de esteroides e da secreção de LH têm grande importância no estudo da reprodução quando consideradas de forma isolada ou em combinação.

Outras contribuições, para o entendimento da regulação neuroendócrina de uma nova via da reprodução, vêm sendo delineadas a partir de trabalhos que abordam a descoberta do sistema KiSS1/GPR54 (DE ROUX *et al.* 2003; SEMINARA *et al.* 2003; SEMINARA & CROWLEY, 2008). Esses estudos revelaram, ainda, a participação de uma mutação encontrada que inativava o receptor 54(GPR54, KiSS1r), resultando no fenômeno do hipogonadismo hipogonadotróficoidiopático, no qual os indivíduos afetados não alcançavam a puberdade. Este fenômeno mostrava-se

associado a níveis reduzidos de LH circulantes nesses indivíduos que, mesmo assim, ainda respondiam a administração de GnRH (TUSSET *et al.*, 2011). Estes efeitos foram confirmados, também, em estudos com camundongos *knockout* (SEMINARA *et al.*, 2003). Muita ênfase vem sendo dada ao sistema KiSS1/GPR54 por acreditar-se que seja central na regulação de GnRHe, conseqüentemente, no controle da secreção de LH e FSH, além de outras funções biológicas como nutrição, metabolismo, respostas a efeitos de fotoperíodo e envolvimento na sinalização do eixo reprodução-puberdade dos mamíferos (REVEL *et al.*, 2006; ROA & TENA-SEMPERE, 2007). Resultados discordantes foram encontrados por MAYER & BOEHM (2011) demonstrando que o início e final da maturação reprodutiva podem ocorrer na ausência dessa sinalização do sistema KiSS1/GPR54. Nesse sistema, ainda pouco conhecido, observa-se uma grande divergência na sequência do gene KiSS1, o que tem dificultado estudo evolutivo em outras espécies não-mamíferas. Mesmo assim, alguns laboratórios vêm descrevendo sua identificação em peixes (VAN AERLE *et al.*, 2008; KANDA *et al.*, 2008), onde estudos recentes observaram a presença de dois genes distintos que codificavam

peptídeos Kiss em “zebrafish”, “medaka” e “seabass” (KITAHASHI *et al.*, 2009; FELIP *et al.*, 2009; ZOHAR *et al.*, 2010).

2.2. O desenvolvimento ovariano em peixes

Os peixes apresentam variados tipos de ciclos ovarianos, que podem se limitar a um curto intervalo de tempo ou se estender por todo ano. Como se observa em muitas espécies de peixes teleósteos, o desenvolvimento folicular nas fêmeas apresenta duas fases distintas: na primeira ocorre a proliferação, crescimento e diferenciação dos gametas (vitelogênese) e na segunda, a preparação dos ovócitos para serem liberados e fecundados (maturação). De uma maneira geral, a vitelogênese se desenvolve normalmente sem problemas significativos, nos peixes cultivados quando as condições do ambiente de criação são boas (BUCHET *et al.*, 2008; OKUMURA *et al.*, 2003), embora seja grande a complexidade da maturação final dos ovócitos.

A complexidade no processo reprodutivo surge em função da organização e do crescimento dos folículos ovarianos que podem seguir

padrões definidos como: a) ocorrer de forma sincronizada em sua totalidade, b) ocorrer uma sincronização em grupos distintos e, c) o seu crescimento acontecer de forma assincronizada (WALLACE & SELMAN, 1981). Esses tipos de desenvolvimento folicular podem caracterizar o processo reprodutivo encontrado em muitas espécies de teleósteos existentes e são exemplificados por PETER & YU (1997), nos salmões do Pacífico (*Anadromoussalmonids*) e enguias (Gênero *Anguilla*) que morrem após desovarem, apresentam uma estação de desova curta, bem definida, e um desenvolvimento folicular sincronizado; nos “goldfish” e “medaka” (*Oryziaslatipes*) ocorrendo desenvolvimento folicular ovariano em grupos sincronizados, crescimento simultâneo de duas ou mais populações distintas (ou agrupamentos) de ovócitos em estágios diferentes. Neste caso, a ovulação e desova podem acontecer em uma mesma estação de reprodução, uma ou mais vezes, dependendo somente da espécie e das condições ambientais; e, peixes com desovas múltiplas, como dourada do mar e “killifish” (*Fundulusheteroclitus*), que apresentam um crescimento folicular assincronizado, isto é, nos ovários são encontrados os ovócitos em todos os

estágios de desenvolvimento (sem agrupamentos pronunciados). Com isso, a ovulação e desova, dessas espécies, podem acontecer em períodos longos ou a duração da estação de desova ser distendida.

Por outro lado, alguns trabalhos mostram a interferência de fatores ambientais no ciclo reprodutivo em peixes de água doce nas regiões tropicais, tanto nos seus *habitats* naturais (ANDRADE-TALMELLI *et al.*, 1994) como em ambientes confinados (ROMAGOSA *et al.*, 1990; ROMAGOSA, 1998; ANDRADE-TALMELLI *et al.*, 2002). Esses fatores promovem modificações no desenvolvimento ovariano podendo chegar ao nível de atresia folicular, fenômeno que acontece normalmente tanto em peixes selvagens como naqueles que vivem em confinamento. Essas alterações podem acontecer nos diferentes estágios da pré-desova, desova e pós-desova (GURAYA *et al.*, 1975; ROMAGOSA *et al.*, 2001), sendo o estresse considerado como o principal fator responsável por esse mecanismo nos peixes em cativeiro.

2.3. **Maturação final de ovócitos e disfunção reprodutiva**

Os ambientes artificiais carecem dos estímulos naturais, como nutrientes adequados, correnteza, profundidade e qualidade da água, entre outros substratos promotores da desova, pois não são capazes de induzir apropriadamente a resposta endógena nos peixes. A carência desses estímulos resulta numa disfunção reprodutiva de falha da maturação final do ovócito (FOM) e subsequente liberação através da desova (ABRAHAM, 1988; ZABALA *et al.*, 1997; MARINO *et al.*, 2001; PODHOREC & KOURIL, 2009).

Essas disfunções observadas no cultivo podem variar na sua extensão, como uma ausência total do desenvolvimento reprodutivo (KAGAWA *et al.*, 2005; PALSTRA *et al.*, 2005) ou falha na liberação dos gametas, encontrada em salmonídeos (BROMAGE *et al.*, 1992). Contudo, a disfunção mais frequente observada é a falha na maturação dos ovócitos, em função da vitelogênese não ser completada (MYLONAS & ZOHAR, 2001; ZOHARE MYLONAS, 2001; MYLONAS *et al.*, 2010).

Os problemas mais sérios das disfunções, conforme ressalta ZOHAR & MYLONAS (2001a), ocorrem em fêmeas cultivadas em cativeiro e podem ser classificados em três tipos diferentes. O primeiro, e mais severo desses problemas, é uma falha no processo da vitelogênese que não se completa. Esse tipo de falha é observado na enguia de água doce (gênero *Anguilla*), atribuindo-se como principal motivador a ausência da migração dos peixes ao longo do leito dos rios, por impossibilitar o desenvolvimento gonadal na sua plenitude.

O segundo tipo de disfunção reprodutiva mais comum é a ausência da maturação final do ovócito. Nesse grupo de disfunção a vitelogênese parece progredir normalmente, mas na estação de desova ocorre falha na fase pós-vitelogênica, da FOM e ovulação, com os óvulos tornando-se atrésicos (TUCKER, 1994; BERLINSKY *et al.*, 1997; LARSSON *et al.*, 1997; MYLONAS *et al.*, 1997b).

A terceira disfunção observada no final do ciclo reprodutivo é a ausência da desova. Nas espécies que apresentam esse problema, mesmo ocorrendo a vitelogênese normal, acontece a FOM e ovulação em resposta

aos estímulos ambiental e fisiológico apropriados, mas os óvulos não são liberados para o meio exterior. Como observado em salmonídeos, os óvulos ficam retidos na cavidade abdominal, sendo reabsorvidos nos meses seguintes (BROMAGE *et al.*, 1992); nas fêmeas de outras espécies marinhas, como "dentex" comum (*Dentexdentex*) e "whitegrouper" (*Epinephelus aeneus*) (HASSIN *et al.*, 1997) pode ocorrer a ovulação mas, a extrusão dos óvulos, somente acontece algum tempo depois (horas a dias), sem que seja observada qualquer alteração de comportamento reprodutivo. Outro ponto a ser considerado é o amadurecimento dos óvulos, dependendo da espécie e da temperatura da água, que pode ocorrer em minutos, horas ou semanas (SPRINGATE *et al.*, 1984). A sincronização das fêmeas em uma criação particular torna-se necessária e de fundamental importância, uma vez que o monitoramento pode durar semanas e ser um trabalho muito intenso, em função das dificuldades encontradas na determinação do momento da ovulação. Assim, cuidados e manejo inadequados com os indivíduos antes da ovulação podem ter efeitos danosos sobre o processo da FOM e da qualidade dos óvulos.

2.4. Métodos artificiais para indução da desova

2.4.1. Estímulo ambiental

A reprodução de peixes em cativeiro ainda é uma atividade limitada, apesar da possibilidade na manipulação de alguns fatores ambientais como fotoperíodo, temperatura da água, interações sociais e substratos indutores da desova.

O desenvolvimento sexual e desova em alguns peixes é modulado pelo fotoperíodo (BROMAGE *et al.*, 1984), com dias longos ou presença de luz contínua influenciando o início do ciclo reprodutivo que pode ser adiantado, proporcionando uma maturação dos ovócitos e desova mais precoce mas, também, após o verão esse início pode ser retardado (BROMAGE *et al.*, 1984; DUSTON & BROMAGE, 1986). Considerando essas possibilidades, a manipulação do fotoperíodo vem sendo utilizada, há muito tempo, para controlar a ovulação (DUSTON & BROMAGE, 1986). Como exemplo, observam-se que alterações abruptas na duração do fotoperíodo podem retardar o tempo da ovulação no inverno enquanto na primavera podem adiantar (BROMAGE *et al.*, 1984). A luz continuada pode também ser utilizada para adiantar ou

retardar a ovulação, dependendo da fase do ciclo reprodutivo (PETER & YU, 1997).

O aumento ou a diminuição excessiva da temperatura da água é outro fator a influenciar intensamente a indução da desova, podendo ainda prejudicar a qualidade da progênie (GILLET *et al.*, 1996; PANKHURST & THOMAS, 1998). Em ciprinídeos a temperatura tem efeito predominante sobre o ciclo reprodutivo, influenciando no desenvolvimento ovariano e na ovulação, fato observado com muitas outras espécies (PETER & YU, 1997). Por exemplo, a maturação final do ovócito e a ovulação, em algumas espécies, podem ser induzidas por uma elevação gradativa na temperatura, enquanto, em outras, necessitam de variações mais abruptas (PETER & YU, 1997). O fotoperíodo, por outro lado, é capaz de influenciar o momento em que surge o GtH-II pré-ovulatório, e a elevação da temperatura pode induzir a ovulação (PETER & YU, 1997). O contrário é observado no outono e no inverno, com a ovulação e a desova ocorrendo em temperaturas relativamente baixas, sendo no início novamente influenciada pela temperatura. Em “seabass” (*Dicentrarchus labrax*, Moronidae) foi

observado que a desova ocorre quando a temperatura cai para 10–12°C, sugerindo que a baixa de temperatura pode adiantar a desova enquanto temperaturas altas podem promover um retardo (ZANUY *et al.*, 1986). Outras espécies são estimuladas com as precipitações das chuvas e enchentes, que alteram a disponibilidade de substratos diversos modificadores da qualidade da água, fatores necessários para indução da desova. Também são observadas interações entre machos e fêmeas, com possíveis participações de ferormônios com implicações comportamentais significativas sobre o desempenho dos indivíduos. Em “zebrafish” as fêmeas quando estão com os machos normalmente ovulam a cada 4–5 dias, no entanto quando isoladas não ovulam, necessitando para tanto de uma re-exposição aos machos no viveiro (PETER & YU, 1997). Outros fatores como os poluentes ou os que promovem deterioração da qualidade da água são capazes de promover uma resposta de estresse. O estresse agudo ou crônico mostrou ter efeitos deletérios sobre as funções reprodutivas, causando um atraso na ovulação e diminuindo a qualidade dos óvulos produzidos (CAMPBELL *et al.*, 1994).

Contudo, quanto aos fatores relacionados à biologia dos peixes, como sua migração contra correnteza da água para realizar a desova natural, ainda não é possível esse controle, o que dificulta uma melhor ação sobre o desempenho reprodutivo dessas espécies que realizam a piracema. Outras dificuldades encontradas referem-se à natureza alimentar ou às enfermidades surgidas durante o manejo dos indivíduos, mas que podem ser minimizadas quando as condições ambientais de cativeiro são controladas, tornando-as apropriadas para maturação e produção de gametas de boa qualidade (EL NAGGAR *et al.*, 2006; OKUMURA *et al.*, 2003; MOUSA & MOUSA, 2006).

2.4.2. Terapia Hormonal

A sustentabilidade da exploração comercial de peixes criados em cativeiro está diretamente ligada ao seu controle reprodutivo, que muitas vezes acontece em períodos de curta duração. Há a necessidade de uma forma contínua de produção que só se tornará possível através da manipulação hormonal quebrando a sazonalidade e distendendo a durabilidade desse ciclo. Nesse processo inclui-se a indução artificial mediante aplicação de hormônios nas fêmeas aptas

promovendo o desencadeamento do processo de maturação final dos ovócitos, sua liberação e, conseqüente, fertilização dos mesmos.

Os métodos tradicionais que promovem a desova em peixes são baseados na injeção de hormônios de diferentes origens que incluem extratos bruto e parcialmente purificado da pituitária de carpa (CPE) e de outros peixes (GtH-II), além daqueles extraídos de mamíferos, especialmente o hormônio coriônico humano (HCG) (LAM, 1982; MYLONAS *et al.*, 2010), por serem capazes de induzir a liberação de gonadotrofinas.

O uso desses hormônios na reprodução artificial deve levar em conta alguns fatores como: o preço e a dificuldade na sua obtenção, o estágio que se encontra o desenvolvimento gonadal, a duração do tratamento, a concentração do produto utilizada e os efeitos colaterais resultantes que podem promover danos ou levar o peixe até à morte (MEHDI & MOUSAVI, 2011).

O controle da função reprodutiva na produção contínua de peixes é essencial, e quando surgem falhas a identificação das causas se torna necessária. A falha mais frequentemente observada está relacionada à maturação

dos ovócitos (OM) e sua liberação (desova), que tem como fator causal uma diminuição na liberação de LH pela pituitária (ZOHAR & MYLONAS, 2001). Assim, a manipulação da função reprodutiva deve focalizar inicialmente o uso de preparações de LH exógeno que atuam diretamente sobre as gônadas; vem sendo utilizado GnRH_a, com ou sem antagonista de DA, que promovem a liberação dos estoques endógenos da pituitária. As preparações de extratos da pituitária de carpa e salmão (CPE e SPE), purificados de diferentes formas, estão disponíveis comercialmente (DONALDSON, 1973; YARON, 1995; SALES, 1995). A gonadotrofina coriônica humana (hCG) também vem sendo usada amplamente na reprodução em peixes, inclusive já se encontra disponível há algum tempo no mundo todo, de forma purificada e com bioatividade clínica padronizada, sendo muito eficiente quando utilizada na reprodução de peixes, presumivelmente devido a sua longa meia-vida circulante (OHTA & TANAKA, 1997). Por acontecer em alguns peixes, uma forte inibição basal promovida pela DA, impedindo a liberação do LH, faz-se necessária a administração dos seus antagonistas antes do tratamento com GnRH_a. A ação dos antagonistas remove a inibição sobre as

gonadotrofinas e realça o efeito estimulador do GnRH α para liberação de LH. A maturação final dos ovócitos requer tratamento hormonal mais prolongado, muitas vezes com aplicações múltiplas do produto (DABROWSKI *et al.*, 1994; MYLONAS *et al.*, 1992; PANKHURST *et al.*, 1996; SLATER *et al.*, 1994) que podem tornar-se estressantes face as dificuldades para manejo dos indivíduos.

Visando solucionar essas dificuldades, foi desenvolvida uma variedade de sistemas liberadores de hormônios nesses últimos 20 anos, com o fim utilitário para uso no cultivo de peixes (MYLONAS & ZOHAR, 2001). Assim, à medida que esses sistemas liberadores de GnRH α tornam-se de fácil manipulação, uma mesma preparação podendo ser utilizada para tratar peixes de tamanhos variados e por períodos com duração mais distendida e, à partir daí, os produtores passando a utilizá-la na sua rotina de produção.

2.4.2.1. Preparações utilizadas

Apesar da diversidade de respostas, alguns trabalhos apresentam protocolos para o tratamento de peixes de maneira bastante eficiente (LAM,

1982; ZOHAR & MYLONAS, 2001; MAÑANOSET *al.*, 2002; MYLONASET *al.*, 2010). Tem-se utilizado as preparações de LH, 4 mg kg⁻¹ de CPE, para induzir a OM e ovulação em catfish europeu (*Silurus glanis*), sendo menos eficiente que o tratamento com a combinação de GnRH α + antagonista da DA (BRZUSKA, 2001); no Brasil, o uso de CPE e hCG em “catfish” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) foi muito eficiente na indução da OM e ovulação (LEONARDO *et al.*, 2006); em curimatã (*Prochilodus* sp) duas formas sintéticas de LHRH foram utilizadas em duas aplicações: um decapeptídeo na concentração de 20 μ g/peixe na primeira dose e 50 μ g na segunda; outra forma mais eficiente de LHRH, um nonapeptídeo, na concentração de 0,8 μ g/peixe na primeira inoculação e de 2,0 μ g/peixe na segunda foram capazes de promover a indução da ovulação eficazmente com excelentes índices de fecundação (Itani *et al.*, 2010). Em “catfish japonês” (*Silurus asotus*), uma única injeção de 10.000 IU kg⁻¹ de hCG induziu a OM e a ovulação (KUMAKURA *et al.*, 2003) e de 1000 ou 2000 IU kg⁻¹, de hCG, foi eficiente em “spotted seabass” (*Lateolabrax maculatus*) (LEE & YANG, 2002). A aplicação de uma ou

duas doses de hCG, 6mg kg⁻¹ ou 2500 IU kg⁻¹ de CPE, em “ocellatedpuffer” (*Takifuguocellatus*) foram eficientes na indução daOM e da ovulação (CHEN, 2005), enquanto para o pikeperch (*Sanderlucioiperca*) a hCG foi eficiente quando usada em doses única ou múltipla de 200 IU kg⁻¹ (ZAKESSESZCZEPKOWSKI, 2004). As aplicações únicas ou múltiplas de GnRHa tem sido usado amplamente em peixes com desenvolvimento ovariano sincronizado. Nos protocolos com duas aplicações, a GnRHa é ministrada em uma primeira dose (5–10%) e o restante na segunda dose (95–90%). Quando se utiliza um antagonista da DA nessas aplicações, sua administração deve acontecer juntamente com a primeira dose.

Em peixes com desenvolvimento ovariano assincronizado, como o “greaterambejack”, os sistemas liberadores de GnRHa vem sendo usado, preferencialmente, com aplicações múltiplas para indução de OM e ciclos de ovulação. Por exemplo, os sistemas liberadores de GnRHa induzem duas desovas seguidas dentro de 3 dias em “whitebass” (*M.chrysops*) (MYLONAS *et al.*, 1997a) e “amberjack” maior (*Serioladumerili*) (MYLONAS *et al.*, 2004), cinco

desovas em 7 dias no “barramundi” (*Lates calcarifer*) (ALMENDRAS *et al.*, 1988), cinco ovulações em 2 semanas em “stripedtrumpeter” (*Latrislineate*) (MOREHEAD *et al.*, 1998), de uma a quatro ovulações dentro de 7 dias em “blackseabass” (*C. striata*) (WATANABE *et al.*, 2003) e sete ovulações em 10 dias no “duskygrouper” (*Epinephelusmarginatus*) (MARINO *et al.*, 2003). Estas espécies são consideradas como tendo desenvolvimento ovariano em grupos sincronizados, e são capazes de produzir poucas desovas em intervalos irregulares durante a estação reprodutiva anual.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento dos mecanismos neuroendócrinos e dos indutores da ovulação e desova é essencial para um bom cultivo nas diferentes espécies com potencialidades exploratórias, e resulte em um bom retorno comercial.

O estudo do ciclo reprodutivo buscando entender as condições adequadas de ambiente que facilitem uma ampla ovulação de ovócitos de boa qualidade, em uma única estação ou ao longo de todo

ano, é necessário para o controle desejado da exploração.

A aquisição dos produtos farmacológicos indutores da desova e a facilidade de sua manipulação, por parte dos produtores, certamente darão sustentação a produção além de possibilitar um incremento na exploração das espécies desejadas.

Referências Bibliográficas

- ABRAHAM, M. Recent trends in research on induced spawning of fish in aquaculture. **J. Appl. Ichtyol.**, 4: 49-64, 1988.
- ALMENDRAS, J.M., DUENAS, C., NACARIO, J., SHERWOOD, N.M., CRIM, L.W. Sustained hormone release. III. Use of gonadotropin releasing hormone analogues to induce multiple spawnings in sea bass, *Lateolabrax niloticus*. **Aquaculture**, 74: 97-111, 1988.
- AMOSS, M., BURGUS, R., BLACKWELL, R., VALE, W., FELLOWS, R., GUILLEMIN, R. Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 44: 205-210, 1971.
- ANDRADE-TALMELLI, E.F.; NARAHARA, M.Y.; ROMAGOSA, E. *et al.* Fases de degeneração ovocitária em Curimatá, *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881), mantido em confinamento. **Revista Unimar**, 16:83-96, 1994.
- ANDRADE-TALMELLI, E.F.; KAVAMOTO, E.T.; NARAHARA, M.Y. *et al.* Reprodução induzida da piabanha, *Brycon insignis*, (Steindachner, 1876) (Characiformes, Bryconinae), mantida em confinamento. **Rev. Bras. Zootec.**, 31:803-811, 2002.
- BERLINSKY, D.L., WILLIAM, K., HODSON, R.G., SULLIVAN, C.V. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. **J. World Aquat., Soc.** 28: 79-86, 1997.
- BILLARD, R., REINAUD, P., HOLLEBECQ, M.G., BRETON, B. Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LHRH combined or not with pimozide. **Aquaculture**, 43: 57-66, 1984.
- BROMAGE, N.R., ELLIOT, J.A.K., SPRINGATE, J.R.C., WHITEHEAD, C. The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. **Aquaculture**, 43, 213-223, 1984.

- BROMAGE, N., JONES, J., RANDALL, C., THRUSH, M., SPRINGATE, J., DUSTON, J., BARKER, G. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 100, 141–166, 1992.
- BRZUSKA, E. Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. **Aquaculture**, Int., 32: 11–19, 2001.
- BUCHET, V., COQUARD, E., SÉVÈRE, A., BARONE, H. Influence of tank volume on vitellogenesis and spawning performances in sea bass *Dicentrarchus labrax* L. **Aquat. Res.**, 39, 420–426, 2008.
- CAMPBELL, P., POTTINGER, T. AND SUMPTER, J. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. **Aquaculture**, 120: 151–169, 1994.
- CHEN, Y.F. Induced ovulation and embryonic development of ocellated puffer, *Takifugu ocellatus*. **J. Appl. Ichthyol.**, 21: 136–140, 2005.
- DABROWSKI, K., CIERESZKO, A., RAMSEYER, L., CULVER, D., KESTEMONT, P. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). **Aquaculture**, 120:171–180, 1994.
- DEROUX, N., GENIN, E., CAREL, J.-C., MATSUDA, F., CHAUSSAIN, J.-L., MILGROM, E. Hypogonadotrophic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, 100: 10972–10976, 2003.
- DONALDSON, E.M. Reproductive endocrinology of fishes. **Am. Zool.**, 13: 909–927, 1973.
- DUFOUR, S., SEBERT, M.E., WELTZIEN, F.A., ROUSSEAU, K., PASQUALINI, C. Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. **J. Fish. Biol.**, 76, 129–160, 2010.
- DUSTON, J., BROMAGE, N. Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. **Fish Physiol. Biochem.**, 2: 35–51, 1986.
- EL NAGGAR, G.O., JOHN, G., REZK, M.A., ELWAN, W., YEHIA, M. Effect of varying density and water level on the spawning response of African catfish *Clarias gariepinus*: implications for seed production. **Aquaculture**, 261: 904–907, 2006.
- FELIP, A.; ZANUY, S.; Pineda, R.; PINILLA, L.; CARRILLO, M.M.; TENA-SEMPERE, M.; GÓMEZ, A.

- Evidence for two distinct *KiSS* genes in non-placental vertebrates that encode kisspeptins with different gonadotropin-releasing activities in fish and mammals. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 312: 61–71, 2009.
- GILLET, C., BRETON, B., MIKOLAJCZYK, T. Effects of GnRH α and pimozone treatments on the timing of ovulation and on egg quality in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) at 5 and 10°C. **Aquat. Living Resour.**, 9, 257–263, 1996.
- GURAYA, S.S.; KAUR, S.; SAXENA, P.K. Morphology of ovarian changes during reproductive cycle of the fishes, *Mystus lengara* (Ham). **Acta. Anat.**, 91:222–260, 1975.
- HASSIN, S., DE MONBRISON, D., HANIN, Y., ELIZUR, A., ZOHAR, Y., POPPER, D.M. Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus*: 1. Growth and reproduction. **Aquaculture**. 156, 309–320, 1997.
- ITANI, A.L., de ARAUJO, M.L., SANTOS, A.J.G. Reprodução induzida da curimatã (*Prochilodus*) utilizando dois tipos de liberadores da gonadotrofina. X Jornada de Ensino e Extensão – JEPEX – UFPE: Recife, 18 a 22 de outubro, 2010.
- KAGAWA, H., TANAKA, H., OHTA, H., UNUMA, T., NOMURA, K. The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture. **Fish Physiol. Biochem.**, 31, 193–199, 2005.
- KANDA, S., AKAZOME, Y., MATSUNAGA, T., YAMAMOTO, N., YAMADA, S., TSUKAMURA, H., MAEDA, K., OKA, Y. Identification of KiSS-1 product kisspeptin and steroid-sensitive sexually dimorphic kisspeptin neurons in medaka (*Oryzias latipes*). **Endocrinology**. 149, 2467–2476, 2008.
- KEBABIAN, J.W., CALNE, D.B. Multiple receptors for dopamine. **Nature**. 277: 93–96, 1979.
- KIM, D.-J.; SUZUKI, Y.; AIDA, K. The Control Mechanism of Gonadotropin-Releasing Hormone and Dopamine on Gonadotropin Release from Cultured Pituitary Cells of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* at Different Reproductive Stages. **Fish Aquat. Sci.**, 14: 379–388, 2011.
- KITAHASHI, T., OGAWA, S., PARHAR, I.S. Cloning and expression of kiss2 in the zebrafish and medaka. **Endocrinology**. 150, 821–831, 2009.
- KUMAKURA, N., SAKAI, K., TAKASHIMA, F. Reproductive cycle and human chorionic gonadotropin-induced ovulation in hatchery reared Japanese catfish *Silurus asotus*. **Fish. Sci.**, 69: 495–504, 2003.

- LAM, T.J. Applications of endocrinology to fish culture. **Can. J. Aquat. Fish. Sci.**, 39: 11–137, 1982.
- LARSSON, D.G.J., MYLONAS, C.C., ZOHAR, Y., CRIM, L.W. Gonadotropin releasing hormone-analogue (GnRH-A) advances ovulation and improves the reproductive performance of a cold-water batch-spawning teleost, the yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). **Can. J. Aquat. Fish. Sci.**, 54, 1957–1964, 1997.
- LEE, W.-K., YANG, S.-W. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Lateolabrax maculatus* (Jeom-nong-eo). **Aquaculture**, 207: 169–183, 2002.
- LEONARDO, A.F.G., ROMAGOSA, E., BATLOUNI, S.R., BORELLA, M.I. Occurrence and significance of ovarian and follicular regression in cachara *Pseudoplatystomafasciatum* (Linnaeus, 1766): a histology approach. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 58:831-840, 2006.
- MAÑANOS, E., CARRILLO, M., SORBERA, L.S., MYLONAS, C.C., ASTURIANO, J.F., BAYARRI, M.J., ZOHAR, Y., ZANUY, S. Luteinizing hormone and sexual steroid plasma levels after treatment of European sea bass with sustained-release delivery systems for gonadotropin-releasing hormone analogue. **J. Fish Biol.**, 60:328–339, 2002.
- MARINO, G., AZZURRO, E., MASSARI, A., FINOIA, M.G., MANDICH, A. Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean. **J. Fish Biol.**, 58, 909–927, 2001.
- MARINO, G., PANINI, E., LONGOBARDI, A., MANDICH, A., FINOIA, M.G., ZOHAR, Y., MYLONAS, C.C. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) with a sustained-release GnRH α implant. **Aquaculture**, 219: 841–858, 2003.
- MATSUO, H., BABA, Y., NAIR, R.M., ARIMURA, A., SCHALLY, A.V. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 43, 1334–1339, 1971.
- MAYER, C., BOEHM, U. Female reproductive maturation in the absence of kisspeptin/GPR54 signaling. **Nature Neuroscience**, 14: 704-711, 2011.
- MEHDI, Y., MOUSAVI, S.E. A review of the control of reproduction and hormonal manipulation and hormonal

- manipulations in finfish species. **Afr. J. Agric. Res.**, 6:1643-1650, 2011.
- MOREHEAD, D.T., PANKHURST, N.W., RITAR, A.J. Effect of treatment with LHRH analogue on oocyte maturation, plasma sex steroid levels and egg production in female striped trumpeter *Latrislineata* (Latrididae). **Aquaculture**, 169: 315–331, 1998.
- MOUSA, S.A., MOUSA, M.A. Involvement of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotrophic hormone in the ovarian maturation, seawater acclimation, and induced spawning of *Liza ramada*. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 146: 167–179, 2006.
- MYLONAS, C.C., HINSHAW, J.M., SULLIVAN, C.V. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. **Aquaculture**. 106:379–392, 1992.
- MYLONAS, C.C., MAGNUS, Y., GISSIS, A., KLEBANOV, Y., ZOHAR, Y. Application of controlled-release, GnRHa-delivery systems in commercial production of white bass striped bass hybrids (*sunshine bass*), using captive broodstocks. **Aquaculture**, 140: 265-280, 1996.
- MYLONAS, C.C., MAGNUS, Y., GISSIS, A., KLEBANOV, Y., ZOHAR, Y. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. **J. Fish Biol.**, 51: 234–250, 1997a.
- MYLONAS, C.C., SCOTT, A.P., VERMEIRSEN, E.L.M., ZOHAR, Y. Changes in plasma gonadotropin II and sex steroid hormones, and sperm production of striped bass after treatment with controlled-release gonadotropin-releasing hormone agonist-delivery systems. **Biol. Reprod.**, 57, 669–675, 1997b.
- MYLONAS, C.C., ZOHAR, Y. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. **Rev. Fish Biol. Fish.**, 10, 463–491, 2001.
- MYLONAS, C.C., PAPANDROULAKIS, N., SMBOUKIS, A., PAPADAKI, M., DIVANACH, P. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Serioladumerili*) using GnRHa implants. **Aquaculture**, 237: 141–154, 2004.
- MYLONAS, C.C., FOSTIER, A., ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, 165: 516–534, 2010.
- OHTA, H., TANAKA, H. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin (hCG) and 11-ketotestosterone after a single injection of hCG and induced maturity in the

- male Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Aquaculture**, 153:123–134, 1997.
- OKUMURA, S., OKAMOTO, K., OOMORI, R., SATO, H., NAKAZONO, A. Improved fertilization rates by using a large volume spawning tank in red spotted grouper (*Epinephelus akaara*). **Fish Physiol. Biochem.**, 28, 515–516, 2003.
- OLIVEREAU, M., BALL, J.N. Contribution to the histophysiology of the pituitary gland of teleosts, particularly those of the *Poecilia* species. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 47: 523–532, 1964.
- PALSTRA, A.P., COHEN, E.G.H., NIEMANTSVERDIET, P.R.W., van GINNEKEN, V.J.T., van den THILLART, G.E.E.J.M. Artificial maturation and reproduction of European silver eel: development of oocytes during final maturation. **Aquaculture**. 249, 533–547, 2005.
- PANKHURST, N.W., PURSER, G.J., VAN DER KRAAK, G., THOMAS, P.M., FORTEATH, G.N.R. Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**. 146, 277–290, 1996.
- PANKHURST, N.W., THOMAS, P.M. Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. **Aquaculture**, 166, 163–177, 1998.
- PETER, R.E., YU, K.L. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 7: 173–197, 1997.
- PODHOREC, P.; KOURIL, J. Induction of final oocyte maturation in cyprinidae fish by hypothalamic factors: A review. **Vet. Med.**, 54:97-110, 2009.
- REVEL, F.G., SABOUREAU, M., MASSON-PEVET, M., PEVET, P., MIKKELSEN, J.D., SIMONNEAUX, V. Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters. **Curr.Biol.**, 16, 1730–1735, 2006.
- ROA, J., TENA-SEMPERE, M. KiSS-1 system and reproduction: comparative aspects and roles in the control of female gonadotropic axis in mammals. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 153, 132–140, 2007.
- ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg,

- 1887) (*Colossomamitrei* Berg, 1895) induced to spawn. **Aquaculture**. 86:105-110, 1990.
- ROMAGOSA, E. *Desenvolvimento gonadal (morfologia: ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, Bryconcephalus (Gunther, 1969) em cativeiro*. 1998. 221f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- ROMAGOSA, E.; NARAHARA M.Y.; BORELLA, M.I. *et al.* Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Bryconcephalus*, induzidas a reprodução. **Bol. Inst. Pesca**. 27:113-121, 2001.
- SALES, R. O. **Processamento, caracterização química e avaliação nutricional da silagem da despesca da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em dietas experimentais com ratos**, 1995. 174p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.
- SANTOS, N. F. & SALES, R. O. Avaliação da Qualidade Nutritiva das Silagens Biológicas de Resíduos de Pescado Armazenada por 30 dias e 90 dias em Temperatura Ambiente. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.5, n. 1, p. 01 – 11, 2011. 16p,
- SOUZA, J. M. L.; SALES, R. O.; AZEVEDO, A. R. Avaliação do ganho de biomassa de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentados com silagem biológica de resíduos de pescado.. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.3, n. 1, p. 01 – 14, 2009. 19p
- SCHULZ, R.W., MIURA, T. Spermatogenesis and its endocrine regulation. **Fish Physiol. Biochem.**, 26, 43–56, 2002.
- SEMINARA, S.B. *et al.* The GPR54 gene as a regulator of puberty. **N. Engl. J. Med.** **349**: 1614–1627, 2003.
- SEMINARA, S.B. & CROWLEY, W. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. **J. Neuroendocrinol.** **20**, 727–731 (2008).
- SLATER, C., SCHRECK, C.B., SWANSON, P. Plasma profiles of the sex steroids and gonadotropins in maturing female spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Comp. Biochem. Physiol.**, 109A: 167–175, 1994, 1994.
- SPRINGATE, J.R.C., BROMAGE, N.R., ELLIOT, J.A.K., HUDSON, D.L. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**, 43, 313– 322, 1984.

- SUZUKI, K., KAWAUCHI, H., NAGAHAMA, H. Isolation and characterisation of subunits from two distinct salmon gonadotropins. **Gen Comp Endocrinol**, 71:302-306, 1988b.
- TUCKER JR., J.W. Spawning by captive serranid fishes: a review. **J. World Aquac. Soc.**, 25, 345– 359, 1994.
- TUSSET, C., TRARBACH, É.B., SILVEIRA, L.F.G., BENEDUZZI, D., MONTENEGRO, L., LATRONICO, A.C. Aspectos clínicos e moleculares do hipogonadismo hipogonadotrófico isolado congênito. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, 55: 501-511, 2011.
- YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**. 129: 49–73, 1995.
- VAN DER KRAAK, G., DONALDSON, E.M., CHANG, J.P. Dopamine involvement in the regulation of gonadotropin secretion in coho salmon. **Can J. Zool.**, 64: 1245-1248, 1986.
- WALLACE, R.A., SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. **Am. Zool.**, 21: 325–343, 1981.
- WATANABE, W.O., SMITH, T.I.J., BERLINSKY, D.L., WOOLRIDGE, C.A., STUART, K.R., COPELAND, K.A., DENSON, M.R. Volitional spawning of black sea bass *Centropristis striata* induced with pelleted luteinizing hormone releasing hormone-analogue. **J. World Aquat. Soc.**, 34: 319–331, 2003.
- ZABALA, M., GARCIA-RUBIES, A., LOUISY, P., SALA, E. Spawning behaviour of the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean Spain). **Sci. Mar.**, 61, 65– 77, 1997.
- ZAKES, Z., SZCZEPKOWSKI, M. Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) **Aquacult. Int.**, 12: 11–18, 2004.
- ZANUY, S., CARRILLO, M. AND RUIZ, F. Delayed gametogenesis and spawning of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) kept under different photoperiod and temperature regimes. **Fish Physiol. Biochem.**, 2: 53–63, 1986.
- ZOHAR, Y., MYLONAS, C.C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, 197, 99–136, 2001.
- ZOHAR, Y., MUÑOZ-CUETO, J.A., ELIZUR, A., KAH, O. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 165: 438-455, 2010.

