

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE LAMBARIS ALIMENTADOS COM GRÃOS SECOS DE DESTILARIA

Rosa Dulce ZIMBA¹, Fábio Rosa SUSSEL², Kátia Rodrigues Batista de OLIVEIRA¹, Júlio Guerra SEGURA¹, César Gonçalves de LIMA³, Elisabete Maria Macedo VIEGAS^{1*}

RESUMO

Avaliou-se a influência dos níveis de grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) no desempenho reprodutivo de lambaris. Foram elaboradas dietas contendo 0%, 10%, 20% e 30% de DDGS. Os peixes foram estocados durante 150 dias em 16 tanques, com biofiltro, sistema individual de aquecimento e recirculação de água, na densidade de 0,3 peixe.L⁻¹. Foram determinados: fator de condição corporal, índice gonadossomático, volume dos ovos, fertilidade inicial, fertilidade inicial relativa, taxa de fertilidade, índice de desova, fertilidade final, fertilidade final relativa, taxa de eclosão e de sobrevivência das larvas, diâmetro dos ovos e do vitelo e comprimento das larvas. Realizaram-se também histologia das gônadas das fêmeas e dos machos e avaliação do sêmen. Os dados foram submetidos à análise de variância, regressão e teste de tendência. A adição de DDGS nas dietas afetou a fertilidade inicial nas fêmeas, o peso, o comprimento total e o padrão dos machos (P<0,05). Para as outras variáveis não foram observadas diferenças (P>0,05). Não foram evidenciadas diferenças entre as estruturas morfológicas dos ovários, mas os testículos dos peixes alimentados com dieta de 30% de DDGS apresentaram células espermáticas em abundância. O DDGS pode ser usado como alternativa proteica, sem gerar prejuízos ao desempenho reprodutivo.

Palavras-chave: peixe; alternativa proteica; reprodução.

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF LAMBARIS FED WITH DISTILLERY DRIED GRAINS

ABSTRACT

This research was carried out to investigate the influence of dietary inclusion of distillers dried grain with solubles (DDGS) on reproduction performance of lambari. Four diets were prepared containing 0%, 10%, 20%, and 30% of DDGS. Fishes were stocked in 16 tanks, provided with biofilter and single system of water recirculation and heating, density were 0.3 fish.L⁻¹, during 150 days. Were determinate: body conditional factor, gonadosomatic index, egg volume, initial fertility, relative initial fertility, fertility rate, spawning rate, final fertility, final relative fertility, hatching and survival rate of larvae, eggs diameter and length of larvae. It was made histology of the gonads of females and males and evaluation of semen. The data were subjected to analysis of variance, and regression trend test. The addition of DDGS in the diets affect the initial fertility in females, the weight, the total length and pattern of males (P < 0.05). For the remaining variables no differences were found (P > 0.05). Were not highlighted differences between the morphological structures of the ovaries, but the testicles of fish fed diet of 30% of DDGS presented abundant sperm cells. The DDGS can be used as alternative protein without generating losses in reproductive performance.

Key words: fish; protein alternative; reproduction.

Artigo Científico: Recebido em 02/05/2016; Aprovado em 06/12/2016

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa, Av. Duque de Caxias Norte 225, CEP: 135635-900 São Paulo, São Paulo, Brazil. **enviegas@usp.br* (autor correspondente)

²Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Polo Regional da APTA Centro-Leste. Pirassununga, SP -Brasil.

³Departamento de Ciências Básicas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa, Av. Duque de Caxias Norte 225, CEP: 135635-900 São Paulo, São Paulo Brasil.

INTRODUÇÃO

Pesquisas recentes têm como foco a substituição de proteínas de origem animal por proteínas de origem vegetal nas dietas de diferentes espécies aquícolas. No entanto, a formulação de rações bem sucedidas exige: combinações de ingredientes econômicos, compreensão dos requerimentos nutricionais do peixe, interação entre os nutrientes, boa palatabilidade, disponibilidade dos nutrientes, variabilidade e limitações dos vários ingredientes (NRC, 2011).

A farinha de peixe é o ingrediente referência em dietas para peixes, pois possui ótimo perfil de aminoácidos em sua proteína (ZHOU *et al.*, 2010), energia de alta digestibilidade, fonte de ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais (EL-SAYED, 1999), porém, em razão do elevado custo resultante da baixa oferta deste produto no mercado, a farinha de peixe tem sido substituída por ingredientes proteicos de origem vegetal (ZHOU *et al.*, 2010). O uso de alimentos alternativos tais como: farelo de soja, protenose, farelo de canola, farinha de ossos, farinha de penas e óleos de origem animal apresentam limitações significativas (ASLAKSEN *et al.*, 2007; NRC, 2011).

O aspecto negativo dos produtos de origem vegetal é a presença de fatores antinutricionais, toxinas (micotoxinas), baixo nível de proteínas e aminoácidos essenciais tais como lisina, metionina e arginina (PEREIRA e OLIVA-TELES, 2003).

Comumente, o farelo de soja é um dos mais usados substitutos da farinha de peixe, porque contém elevado nível de proteína. Todavia, as dificuldades no uso desta fonte proteica são a relativa baixa digestibilidade de proteína e energia, oligossacarídeos não digeríveis, deficiências em aminoácidos sulfurados (lisina, metionina e cisteína) (AYADI *et al.*, 2011), deficiências de minerais e presença de nutrientes anti-endógenos, tais como: fatores antinutricionais (inibidores da tripsina), fitohemaglutinina e antivitaminas (EL-SAYED, 1999), aliadas ao fato de, nos últimos tempos, os índices de preço de soja terem subido consideravelmente. Assim sendo, os grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) surgem como uma alternativa proteica relevante.

DDGS é um coproduto resultante da fermentação e destilação do milho e de vários outros cereais (sorgo, cevada e trigo) para a produção do etanol

(HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2000). Este produto contém baixo teor de aminoácidos como: lisina, metionina e triptofano (CHENG e HARDY, 2004) e baixa quantidade de fósforo (BARNES *et al.*, 2012), não contém fatores antinutricionais encontrados em outras fontes proteicas como: o farelo de soja (inibidores de tripsina) ou o farelo de algodão (gossipol) e proporciona benefícios imunológicos aos peixes (LIM *et al.*, 2009). A maior parte das pesquisas feitas com o DDGS em aquacultura enfoca o desempenho produtivo dos organismos, podendo-se citar os seguintes trabalhos: WU *et al.* (1994, 1996); TIDWELL *et al.* (2000); CHENG e HARDY (2004); AYADI *et al.* (2011); BARNES *et al.* (2012) e RAHMA *et al.* (2013). Até então não existem pesquisas que tenham como base a associação do uso de DDGS com o desempenho reprodutivo.

O fornecimento e utilização dos nutrientes começam com a dieta dos reprodutores, pois influenciam o desenvolvimento gonadal, a qualidade e quantidade dos espermatozóides e dos ovos depositados, a qualidade dos ovos, o desenvolvimento embrionário, a porcentagem de fertilização, a eclosão e a sobrevivência de larvas (NAVARRO *et al.*, 2010).

Os nutrientes sequestrados pelo oócito durante o seu desenvolvimento e maturação são um dos fatores-chave que afetam a qualidade do ovo (BROMAGE *et al.*, 1992). Trabalhos relacionados à avaliação do efeito da inclusão de diferentes fontes proteicas no desempenho reprodutivo são escassos, no entanto pode-se destacar o trabalho de PELISSERO *et al.* (1991), que examinaram o efeito estrogênico da dieta de farelo de soja no processo de vitelogenese no esturjão da Sibéria (*Acipenser baerii*) e relataram que níveis de vitelogenina aumentaram nos peixes alimentados com dietas contendo 30 g/100 g de farelo de soja. LEE *et al.* (2006), ao avaliar o efeito a longo prazo da inclusão do farelo de algodão no desempenho produtivo e reprodutivo da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), concluíram que a suplementação de 58,8 g/100 g de farelo de algodão não teve efeitos prejudiciais no crescimento dos peixes, contudo, o desempenho reprodutivo dos machos e das fêmeas foi prejudicado no nível acima de 29,4 g/100 g de farelo de algodão.

O lambari-de-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), espécie de peixe de água doce, onívora, nativa da América do Sul, amplamente distribuída na bacia do rio Tietê e seus afluentes (PORTO-FORESTI *et al.*, 2005), assim como do nordeste brasileiro até a bacia

do Prata (VILELA e HAYASHI, 2001; COTAN *et al.*, 2006), evidencia-se por ter curto ciclo de produção, aceitar bem dietas processadas e pela alta taxa de reprodução (GONÇALVES *et al.*, 2014). Por ser peixe de pequeno porte, o lambari é usado como modelo experimental para outras espécies de grande porte (FELIZARDO *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2013; YASUI *et al.*, 2014). É utilizado como petisco, isca para a pesca esportiva e extrativa, é comercializado em conserva ou como matéria-prima para o fabrico de farinha de peixe (FERREIRA *et al.*, 2014).

A influência da dieta sobre o desempenho reprodutivo dos peixes permite a seleção de ingredientes em níveis mais adequados aos processos metabólicos do animal (NAVARRO *et al.*, 2010). Para isso, mais estudos são necessários para a averiguação dos níveis ideais de inclusão de produtos alternativos para a alimentação de peixes em reprodução. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo conhecer a influência dos diferentes níveis de inclusão de DDGS no desempenho reprodutivo do lambari.

MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental de desempenho reprodutivo do lambari-de-rabo-amarelo foi desenvolvida na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga - Polo Regional APTA Centro-Leste, Estado de São Paulo, e a avaliação da qualidade do sêmen foi realizada no Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade, Pirassununga. As demais análises do experimento foram executadas na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP.

Análise química e formulação das dietas

Para a determinação da composição bromatológica (matéria seca; proteína bruta; extrato etéreo; energia bruta e fibra bruta e matéria mineral) do DDGS do milho, dos ingredientes e das dietas experimentais, utilizou-se a metodologia descrita pela AOAC (2000). O delineamento experimental aplicado foi o Inteiramente Casualizado, composto por quatro tratamentos e quatro repetições. A partir dos resultados obtidos nas análises químicas dos ingredientes foram formuladas as dietas experimentais isoproteicas e isoenergéticas usando-

se a matriz do programa "Solver" do Excel. No presente estudo, o DDGS foi adicionado às dietas experimentais nas seguintes proporções: 0, 10%, 20% e 30%; em substituição parcial ou total da farinha de soja e quirera de arroz (Tabela 1).

A ração foi extrusada (granulometria de 2 mm) em extrusora Imbramarq modelo PQ-30 de 30 kg por hora de capacidade, seguindo-se secagem durante 12 horas em estufa de recirculação de ar, à temperatura de 55-60°C.

Condições experimentais

O experimento teve duração total de 150 dias e foram utilizados 2400 juvenis de lambari distribuídos em 16 tanques de fibrocimento com 1,0 m x 1,0 m x 0,6 m, relativamente ao comprimento, largura e altura, com volume de 500 L. A água dos tanques foi mantida à temperatura constante de 26°C por meio de aquecedores de 500 W e em sistema de recirculação de água por meio de filtro biológico individual (vazão de 1 L.minuto⁻¹). Cada unidade experimental foi composta por 150 juvenis, na densidade de estocagem de 0,3 peixe. L⁻¹.

A frequência de alimentação foi de duas vezes ao dia (9h e 16h) e a taxa de arraçoamento foi de 5%, administrando a ração cuidadosamente até a saciedade aparente dos peixes, sem que houvesse sobras. Utilizou-se fotoperíodo de 12h. Semanalmente foram medidos o pH, a amônia total e o nitrito usando kits comerciais (LabconTest). A determinação do oxigênio dissolvido e da temperatura da água foi feita às 8h e 17h, utilizando-se oxímetro YSI Pro 20.

Preparação dos reprodutores

Após 150 dias de criação foram selecionadas de cada unidade experimental três fêmeas com características aptas à reprodução, ou seja: ventre abaulado e macio e papila urogenital avermelhada. Estas apresentavam peso e comprimento médios de 17,47±2,67 g e 9,63±0,45 cm, respectivamente. Da mesma forma, de cada unidade experimental, três machos com espículas na nadadeira anal foram selecionados, apresentando peso médio de 10,83±2,23 g e comprimento médio de 8,27±0,13 cm.

Os casais foram distribuídos em 14 caixas de 50 L com sistema de aquecimento, aeração e circulação constantes de água.

Tabela 1. Formulação e composição química das dietas experimentais (Matéria natural).

Ingrediente	0%	10%	Dieta (DDGS)	
			20%	30%
DDGS	0	10	20	30
Farelo de soja	18,9	12,6	6,3	0
Quirera de arroz	11,07	7,38	3,69	0
Farelo de arroz	9	9	9	9
Farelo de trigo	14	14	14	14
Milho (grão)	8	8	8	8
Glúten de milho	15,7	15,7	15,7	15,7
Farinha de vísceras de aves	8,5	8,5	8,5	8,5
Farinha de peixe	10	10	10	10
Óleo de linhaça	2,28	2,27	2,26	2,25
Fosfato bicálcico	0,85	0,85	0,85	0,85
Sal comum	0,13	0,13	0,13	0,13
DL-Metionina	0,5	0,5	0,5	0,5
L-Lisina HCl	0,5	0,5	0,5	0,5
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix de vitaminas e minerais (5 kg.t ⁻¹) ¹	0,5	0,5	0,5	0,5
Butil hidroxitolueno	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100	100	100	100
Composição analisada				
Matéria seca (%)	95,06	90,52	94,97	96,59
Energia bruta (Kcal.kg ⁻¹)	4770,07	4800,61	4900,70	4995,95
Energia digestível (Kcal.kg ⁻¹) ²	3300,26	3300,26	3300,26	3300,26
Proteína bruta (%)	36,50	36,23	36,10	36,65
Proteína digestível (%) ²	30,20	30,12	30,04	29,96
Extrato etéreo (%)	5,35	6,20	6,85	7,86
Matéria mineral (%)	8,37	8,10	7,65	7,32
Fibra bruta (%)	3,59	4,20	4,97	5,50
Fósforo disponível (%) ²	0,71	0,79	0,87	0,95

¹Composição do premix vitamínico e mineral: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 250.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato Ca - 4.000 mg; vit. C - 10.000 mg; biotina - 10 mg; inositol - 1.000 mg; nicotinamida - 7.000 mg; colina - 10.000 mg; Co - 10 mg; Cu - 1.000 mg; Fe - 5.000 mg; I - 200 mg; Mn - 1.500 mg; Se - 30 mg; Zn - 9.000 mg³

²Valor calculado com base nos valores de energia digestível, proteína digestível e fósforo disponível de milho, glúten de milho, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de vísceras de aves e farinha de peixe para tilápia (FURUYA, 2010) e energia digestível de DDGS, obtidos em NRC (2011).

Para a indução da desova, utilizou-se hipófise de carpa. A hipofisação ocorreu de acordo com a metodologia descrita por WOYNAROVICH e HORVÁTH (1980), em que as fêmeas receberam 5 mg.kg⁻¹ de extrato hipofisário em duas doses, sendo 10% da solução hormonal na primeira dose e o

restante, 6 horas após. Os machos receberam dose única de 3 mg.kg⁻¹ no mesmo momento em que foi dada a segunda dose nas fêmeas. A administração hormonal foi realizada na base da nadadeira peitoral e a posição da agulha foi no sentido caudal. A desova dos peixes ocorreu naturalmente.

Determinação de parâmetros reprodutivos e índice de condição corporal

O valor do fator de condição corporal (K) dos reprodutores foi calculado dividindo o peso do peixe pelo comprimento padrão elevado a três e multiplicado por cem (ROYCE, 1972).

Para a determinação do índice gonadosomático (IGS) foram selecionados e sacrificados 5 fêmeas e 5 machos de cada repetição por tratamento com uma dose excessiva de anestésico de 0,1 g de benzocaína.L⁻¹. O IGS foi calculado em função do peso dos reprodutores e das respectivas gônadas (ROMAGOSA *et al.*, 1990).

Os ovos coletados das fêmeas induzidas à desova foram transferidos para uma proveta graduada, esperou-se a decantação total e, em seguida, estimou-se o volume total dos ovos e a quantidade de ovos por peso de fêmea. Determinou-se a fertilidade inicial pesando 0,1 g de ovos fertilizados de cada fêmea e calculando a quantidade de ovos presentes por grama.

Para o cálculo da fertilidade inicial relativa, considerou-se o número de ovos liberados por peso de fêmea. Obteve-se o índice de desova dividindo o peso da desova pelo peso da fêmea (GODINHO, 2007). A taxa de fertilização foi determinada oito horas após o fechamento do blastóporo (SATO *et al.*, 2006) e, para tanto, contaram-se 100 ovos de cada fêmea, em triplicata, dentre os quais foram verificados os férteis (ovos translúcidos) e os inférteis (ovos opacos) com auxílio de lupa simples com ampliação de 5X, sendo os valores obtidos transformados em porcentagem (ROMAGOSA *et al.*, 1990).

A fertilidade final foi determinada a partir da taxa de fertilização e da quantidade de ovos depositados por fêmea, e a fertilidade final relativa, dividindo-se o número de ovos viáveis por peso de fêmea (GODINHO, 2007). Para a obtenção da taxa de eclosão, coletaram-se, de cada repetição, três amostras contendo 100 ovos, das quais fez-se a contagem dos ovos eclodidos (larvas) e dos não eclodidos com auxílio de lupa simples com ampliação de 5X, sendo os valores obtidos transformados em porcentagem (AFZAL KHAN *et al.*, 2005). De cada fêmea, 100 ovos fertilizados foram coletados em triplicata e transferidos para aquários (0,31 x 0,50 x 0,34 m) com fluxo constante de água com capacidade de vazão de 1 L.s⁻¹ à temperatura de 25±1,0°C. Após três dias da eclosão, as larvas foram coletadas, sendo

as vivas contadas para determinação da taxa de sobrevivência (ROMAGOSA *et al.*, 1990).

O diâmetro (µm) dos ovos (hidratados) e do saco vitelino, o comprimento total e o padrão das larvas foram mensurados com auxílio do estereomicroscópio Zeiss Semi 2000-C e ampliação de 2,0 x 1,6, 50. Os ovos e larvas recém-eclodidas foram previamente fixados em solução tamponada de formol a 4% (NAKATANI *et al.*, 2001).

Avaliação do sêmen

Três exemplares de machos de cada repetição foram induzidos à reprodução com hipófise de carpa (3 mg.kg⁻¹). Decorridas seis horas, os peixes foram anestesiados com solução contendo benzocaína (50 mg.L⁻¹) e, em seguida, a papila urogenital de cada um foi seca com toalha de papel e fez-se a compressão abdominal no sentido ântero-posterior. O sêmen foi coletado em Eppendorf de 1000 µL e posteriormente transferido para um tubo de 1,5 mL contendo 400 µL de solução de ringer modificada (128,3 mM NaCl; 23,6 mM KCl; 3,6 mM CaCl₂; 2,1 mM MgCl₂) para imobilização dos espermatozóides (YASUI *et al.*, 2014). Os Eppendorfs com sêmen foram mantidos em condição de refrigeração (15°C).

Uma alíquota de 1 µL de sêmen foi retirada e colocada em câmara de Makler previamente revestida com albumina bovina sérica (BSA 1%) para ativação dos espermatozóides. Em seguida foram adicionados 19 µL de água destilada ao sêmen na placa, e o movimento dos espermatozoides foi registrado e armazenado em vídeo utilizando o software Nis-ArElements. Posteriormente, usando o software Computer assisted sperm analysis (CASA) (RURANGWA *et al.*, 2001) e considerado o tempo de 10 segundos após ativação dos espermatozoides, estimou-se a motilidade espermática, velocidade espermática curvilínea, velocidade média de deslocamento e velocidade espermática em linha reta (SANCHES *et al.*, 2010).

Para a aferição da concentração espermática, 5 µL do sêmen de cada peixe foram coletados e diluídos em solução de ringer, sendo esta mistura transferida para um tubo, ao qual foram adicionados 995 µL de solução fixadora (5% NaHCO₃, 1% formalina). Foi realizada a contagem de células em câmara de Neubauer após a sedimentação dos espermatozoides por aproximadamente 5-10 minutos e feito o cálculo

da concentração (SANCHES *et al.*, 2011).

A viabilidade espermática foi determinada com base na contagem de espermatozoides vivos (cor verde) e mortos (cor vermelha) usando o kit de viabilidade espermática (Sperm Viability Kit, Molecular Probes, USA) e microscópio de fluorescência (Axioplan 2, ZEISS, United States) com câmera CCD (MC 80 DX, ZEISS, United States) acoplada. Todas as lâminas foram fotografadas e contados os espermatozoides.

Morfologia ovariana e testicular do lambari-de-rabo-amarelo

Para avaliar o desenvolvimento gonadal e analisar a morfologia das estruturas dos ovários e dos testículos foram feitos exames histológicos. Dos peixes que foram sacrificados para a determinação do índice gonadossomático foram seccionados segmentos dos ovários e testículos de duas fêmeas e dois machos. Estas amostras foram fixadas em solução de Bouin (700 mL de ácido pícrico, 250 mL de formol e 50 mL de ácido acético) durante 12 horas, sendo, a seguir, conservadas em álcool etílico a 70% até serem processadas.

Após a fixação do material foi feita a inclusão, que consistiu em submeter as amostras a várias lavagens com álcool, xilol e parafina. Posteriormente foram feitos cortes usando micrótomo, com espessura do corte de 4 μm , os quais foram montados em lâminas e, em seguida, desparafinados, reidratados e submetidos a coloração usando hematoxilina e eosina. Utilizando-se microscópio óptico Zeiss Primo Star com câmera digital Axion Cam MRC acoplada, todas as lâminas foram observadas e fotografadas.

Avaliação estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com posterior estudo de regressão para identificar possíveis tendências de resposta em função do aumento do nível de DDGS. Antes dessas análises, as pressuposições de uso da ANOVA foram avaliadas utilizando o SAS/LAB (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Quando necessário, foram feitas transformações das variáveis, e observações atípicas foram retiradas dos dados de análise. Nas análises de variância e testes de tendência, utilizou-se o PROC GLM do SAS e no ajuste das curvas, o PROC REG

do SAS. O nível de significância adotado nos testes foi de 5%.

RESULTADOS

Os valores médios dos parâmetros de qualidade da água observados durante o experimento foram: 26,62 \pm 1,20 $^{\circ}\text{C}$ para temperatura; 7,29 \pm 0,30 para pH; 0,007 \pm 0,003 ppm para amônia; 0,21 \pm 0,17 ppm para nitrito; 5 \pm 0,75 mg.L $^{-1}$ para oxigênio dissolvido.

A seleção e a indução dos reprodutores foram feitas no final do mês de outubro e no início de novembro de 2015, e a desova da maioria dos reprodutores ocorreu seis horas após a segunda dose hormonal, quando a temperatura da água estava em 27 \pm 1,0 $^{\circ}\text{C}$. Mais de 75% das fêmeas induzidas responderam à indução hormonal, e a hora-grau foi de 130 \pm 50.

A inclusão de DDGS teve influência ($P < 0,05$) sobre o peso, comprimento total e padrão dos machos, mas, para as fêmeas, estas variáveis não foram influenciadas pela inclusão do DDGS ($P > 0,05$) (Tabela 2). As médias do índice de condição corporal (K) e do índice gonadossomático (IGS) dos machos não diferem entre si ($P > 0,05$). Não foi verificada diferença ($P > 0,05$) entre os valores de IGS das fêmeas, porém constatou-se que a variável K nas fêmeas tende a diminuir quando se aumenta o DDGS ($P \leq 0,07$). Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos parâmetros reprodutivos. Nota-se que a maioria das variáveis não teve ($P > 0,05$) influência do DDGS, exceto a variável fertilidade inicial (FI) ($P < 0,05$). Através do teste de tendências foi verificado que as variáveis fertilidade inicial relativa (FIR), fertilidade final (FF) e índice de desova (ID) apresentam efeito linear decrescente ($P < 0,05$) quando se aumenta a inclusão do DDGS. Em paralelo foi observado efeito cúbico e quadrático para a taxa de fertilidade (TF) ($P \leq 0,07$) e taxa de sobrevivência (TS) ($P \leq 0,07$), respectivamente. Não foram observadas, nos tratamentos, diferenças significativas entre as médias de diâmetro dos ovos (DO) e do vitelo (DV), assim como entre aquelas de comprimento total (CTL) e comprimento padrão (CPL) da larvas de lambari.

Os resultados referentes à análise do sêmen de lambaris estão contidos na Tabela 4. A concentração espermática, viabilidade espermática e motilidade espermática não foram afetados pela inclusão de DDGS nas dietas ($P > 0,05$). Foi ainda observado que nos tratamentos com maior concentração espermática a motilidade foi baixa.

Tabela 2. Valores médios de peso, comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), índice de condição corporal (K) e índice gonadosomático (IGS) de machos e fêmeas de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com dietas contendo diferentes níveis de DDGS.

Variável	DDGS							Estatística		
	0%	10%	20%	30%	EP	CV	P-valor	Teste de tendência P-valor		
								1 ^o	2 ^o	3 ^o
Machos										
Peso (g)	11,0	9,2	10,0	8,4	0,5	9,4	0,01*	0,0046*	NS	0,037*
CT (cm)	8,7	8,2	8,3	8,0	0,1	3,2	0,01*	0,0046*	NS	0,09
CP (cm)	7,3	6,8	6,9	6,6	0,1	4,0	0,01*	0,0061*	NS	0,08
K	2,8	3,0	3,0	3,0	0,1	7,5	NS	NS	NS	NS
IGS (%)	2,5	2,8	2,5	3,1	0,2	15,7	NS	NS	NS	NS
Fêmeas										
Peso (g)	18,9	17,2	17,1	17,0	1,0	11,9	NS	NS	NS	NS
CT (cm)	9,7	9,6	9,4	9,7	0,2	4,0	NS	NS	NS	NS
CP (cm)	8,1	8,1	7,9	8,2	0,2	4,7	NS	NS	NS	NS
K	3,5	3,3	3,4	3,1	0,1	7,0	NS	0,07	NS	NS
IGS (%)	18,2	18,0	16,4	16,1	1,1	13,2	NS	NS	NS	NS

* P<0,05 diferença significativa entre as médias. NS - não significativo em $\alpha = 0,05$. (cm) - centímetro; EP - erro padrão; CV - coeficiente de variação.

Tabela 3. Índices reprodutivos de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com DDGS.

Variável	DDGS							Estatística		
	0%	10%	20%	30%	EP	CV	P-valor	Teste de Tendência P-valor		
								1 ^o	2 ^o	3 ^o
PF (g)	19,0	17,2	17,3	16,2	1,0	10,9	NS	0,08	NS	NS
VOD (mL)	26,5	22,5	23,0	19,3	2,8	24,2	NS	NS	NS	NS
V (mL) g.F-1	1,4	1,3	1,6	1,1	0,1	20,5	NS	NS	NS	NS
PTO (g)	16,0	13,3	13,3	11,5	1,7	24,4	NS	NS	NS	NS
ID (%)	85,2	77,6	68,6	63,86	7,0	18,8	NS	0,04*	NS	NS
FI	26663,3	23936,3	21447,1	17106,4	2169,2	19,5	0,049*	0,01*	NS	NS
FIR	1420,6	1393,0	1232,4	1067,5	1153,3	18,0	NS	0,04*	NS	NS
FF	18313,6	17282,6	12432,7	12645,6	1981,4	26,1	NS	0,03*	NS	NS
FFR	962,0	1016	725,1	772,9	112,3	25,8	NS	NS	NS	NS
TF (%)	67,8	72,1	58,8	72,7	5,0	14,6	NS	NS	NS	0,07
TE (%)	57,2	54,7	37,5	45,7	9,4	37,8	NS	NS	NS	NS
TS (%)	36,2	20,1	21,2	38,1	7,4	51,7	NS	NS	0,07	NS
DO (μm)	1113,8	1109,8	1133,8	1114,2	14,4	2,6	NS	NS	NS	NS
DV (μm)	714,8	714,4	725,4	726,1	7,7	2,2	NS	NS	NS	NS
CTL (μm)	3100,4	3097,0	3200,3	3283,5	100,1	6,3	NS	NS	NS	NS
CPL (μm)	2917,2	2930,5	3019,0	3087,5	95,8	6,4	NS	NS	NS	NS

V(mL)- volume de ovos por grama de fêmea; PTO(g)- peso total dos ovos; ID(%)- índice de desova; FI- fertilidade inicial; FIR- fertilidade inicial relativa; FF- fertilidade final; FFR- fertilidade final relativa; TF- taxa de fertilidade; TE- taxa de eclosão; TS- taxa de sobrevivência; DO- diâmetro do ovo; DV- diâmetro do vitelo; CTL- comprimento total da larva; CPL- comprimento padrão da larva; EP- erro padrão, CV- coeficiente de variação.

Tabela 4. Concentração espermática (CE), viabilidade espermática (VE), motilidade dos espermatozoides (MOT%), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média de deslocamento (VMD) e Velocidade espermática em linha reta (VLR) dos espermatozoides de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com diferentes níveis de DDGS.

Variável	DDGS				Estatística						
	0%	10%	20%	30%	EP	CV	P-valor	Teste de tendência			
								P-valor			
							1 ^o	2 ^o	3 ^o		
CE (esp.mL ⁻¹)	4,2 x 10 ⁸	3,3 x 10 ⁸	4,1 x 10 ⁸	7,9 x 10 ⁸	1,8x10 ⁸	75,5	NS	NS	NS	NS	
VE (%)	98,4	97,7	98,3	98,7	0,9	1,9	NS	NS	NS	NS	
MOT (%)	63,8	72,3	67,1	59,4	5,4	16,4	NS	NS	NS	NS	
VCL (µm.s ⁻¹)	91,2	91,7	89,8	87,2	3,6	8,0	NS	NS	NS	NS	
VMD (µm.s ⁻¹)	93,8	95,7	90,8	90,6	3,7	8,0	NS	NS	NS	NS	
VLR (µm.s ⁻¹)	73,0	77,3	72,0	75,7	1,8	4,3	NS	NS	NS	NS	

EP- erro padrão, CV- coeficiente de variação. Esp.mL⁻¹ espermatozoide por mililitro; µm.s⁻¹ micrômetro por segundo; NS- não significativo em $\alpha = 0,05$

Morfologia ovariana e testicular

Histologicamente (Figura 1a, b, d, g, h, j), verificou-se a abundância de oócitos na fase inicial de maturação, oócitos vitelogênicos, oócitos pré-vitelogênicos e oócitos primários nos ovários das fêmeas de lambari. Nos oócitos em fase inicial de maturação, o citoplasma apresentava-se repleto de grânulos de vitelo em formato esférico e glóbulos lipídicos, e com o núcleo migrando para o polo animal. Nos oócitos vitelogênicos aparecem novas inclusões no citoplasma, tais como: alvéolos corticais, glóbulos lipídicos e grânulos de vitelo, a parede do oócito (zona radiata) e a parede folicular são mais grossas. Nos oócitos pré-vitelogênicos, o material citoplasmático é pálido e apresenta duas camadas em torno do oócito (células tecais e granulosa); nos oócitos primários, o citoplasma é basófilo e o núcleo, volumoso e com inúmeros nucléolos.

Em relação aos machos de lambari foram observados, em todos os tratamentos, diferentes estágios de desenvolvimento testicular (Figura 2a, b, c, d, e, f, h, j). A estrutura testicular mostrou alterações do epitélio germinativo, sendo possível visualizar duas partes (a espermatogênica e a secretória). Na parte espermatogênica foram encontrados cistos com espermatogônias em diferentes estágios de crescimento, delimitadas por células de Sertoli, alguns túbulos seminíferos repletos de espermatozoides e outros não; na porção secretória observaram-se células que revestiam o lúmen do túbulo e evidenciavam formas colunares, cuboidais ou escamosas (células de Sertoli modificadas) as quais eram circundadas por poucas células germinativas.

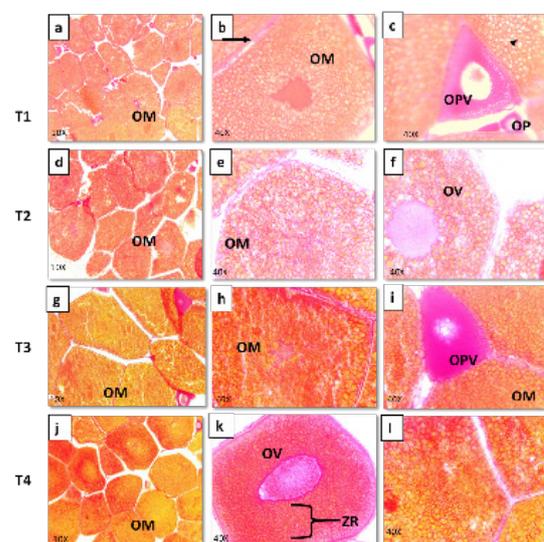


Figura 1. Cortes histológicas dos ovários de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com diferentes níveis de DDGS. T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS), T4- tratamento 4 (30% de DDGS); OM- oócito maduro apresentando o citoplasma repleto de grânulos de vitelo esféricos (cabeça de seta verde), alvéolos corticais (cabeça de seta preta), núcleo periférico, células foliculares achatadas e zona radiata espessa; Seta- células foliculares na periferia (parede folicular); OP- oócito primário com citoplasma fortemente basófilo, pequenos arredondados ou triangulares, núcleo esférico e central; OPV- oócito pré-vitelogênico com citoplasma menos basófilo, núcleo central com contorno irregular e nucléolos esféricos na periferia, zona radiata e células foliculares: células tecais (asterisco verde) e células da granulosa (asterisco preto) presentes e nítida visualização da zona radiata (ZR); OV- oócito vitelogênico com citoplasma acidófilo com notável aumento de volume, núcleo central e zona radiata (ZR) bem evidente.

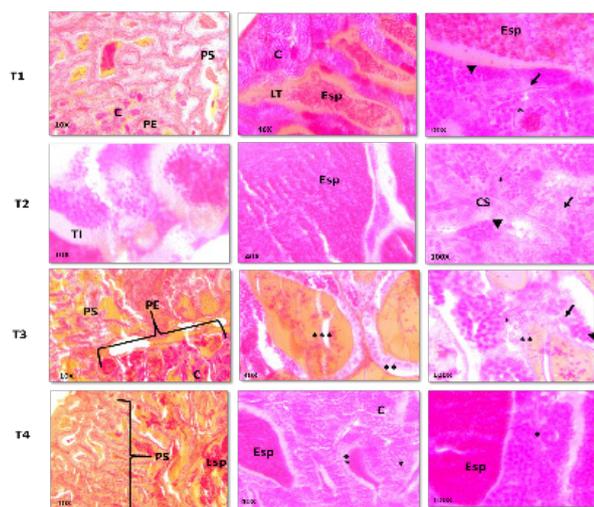


Figura 2. Cortes histológicos dos testículos de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com diferentes níveis de DDGS. T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS), T4- tratamento 4 (30% de DDGS); PE- porção espermatogênica constituída de células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, PS- porção secretora contendo células germinativas dentro do lúmen tubular; C- cistos com células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, LT- lúmen do túbulo seminífero cheio de espermatozoides, Esp- espermatozoides, seta- espermátogônia, (*)- espermátócito, cabeça da seta- espermátide, TI- tecido intersticial, CS- célula de Sertoli, (**)- célula de Sertoli modificada (formas colunares, cuboidais ou escamosas), (***)- espermatozoides residuais rodeados de células de Sertoli.

DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros de qualidade da água encontram-se dentro dos padrões recomendados para o cultivo de lambari-de-rabo-amarelo por PORTO-FORESTI *et al.* (2005). Desta forma, os parâmetros indicadores da qualidade de água foram satisfatórios para o crescimento do lambari-de-rabo-amarelo neste trabalho.

PORTO-FORESTI *et al.* (2005) reportaram que a hora-grau em que ocorre a desova do lambari-de-rabo-amarelo varia de 180 a 250, sendo que quanto mais alta a temperatura da água, menor é a hora-grau (SATO *et al.*, 2003), justificando, desta forma, o menor valor da hora-grau em que as fêmeas desovaram no presente trabalho.

A época reprodutiva do lambari-de-rabo-

amarelo é amplamente variável, pois estes podem se reproduzir o ano todo, inclusive nos meses mais frios, porém SANTOS *et al.* (1996) evidenciaram que a primavera é a época ideal para a reprodução. Entretanto, é mais comum a ocorrência da reprodução dos peixes nos meses chuvosos e quentes em ambientes naturais (SALARO *et al.*, 2015), podendo variar de setembro ao final de março (PORTO-FORESTI *et al.*, 2005). O presente experimento foi conduzido na época recomendada pela literatura, e as condições ambientais eram favoráveis para a reprodução.

RODRIGUES *et al.* (1992) afirmaram que a desova do *Astyanax altiparanae* é descontínua, periódica e anual, com prevalência no bimestre dezembro/janeiro. Mas para GARUTTI (1989), a desova de *A. altiparanae* é parcelada, podendo ocorrer desovas consecutivas em intervalos de duas ou três semanas. Os ovos coletados neste experimento eram esféricos, semiaderentes e demersais, a cor variava de amarelo-esverdeado a pardo, observações que estão de acordo com aquelas de AZEVEDO e CANALE (1938) e SATO *et al.* (2006).

Os resultados referentes a fertilidade inicial (FI), fertilidade inicial relativa (FIR), fertilidade final (FF), fertilidade final relativa (FFR) e taxa de fertilidade (TF) são semelhantes aos obtidos por SATO *et al.* (2006), que, ao trabalhar com *A. altiparanae*, registraram os seguintes valores para: FI (17347±4990,0 ovos), FIR (678±85,0 ovos.g⁻¹ fêmea), FF (13118±4000,0 ovos férteis), FFR (511±75,0 ovos férteis.g⁻¹ fêmea) e TF (75,3±4,9%).

ENVAGELISTA (2015) induziu, na primavera, a desova de lambari-de-rabo-amarelo alimentado com ração comercial (36% de PB e 3000 kcal.kg⁻¹ ED) e mantidos em condições controladas, obtendo os seguintes resultados para FIR (999,61±367,53 ovos), taxa de fertilização (71,70±26,64%); e taxa de sobrevivência das larvas (38,00±36,65%). Os dados obtidos para FIR na presente pesquisa foram maiores que os obtidos por ENVAGELISTA (2015).

Os resultados alcançados neste estudo são semelhantes aos reportados por SATO *et al.* (2006), que obtiveram (1143±33,0 µm) para diâmetro do ovo hidratado, (642±28,0 µm) para diâmetro do vitelo e (2284±80,0 µm) para comprimento da larva. GONÇALVES *et al.* (2014) reportaram 1190 µm para o diâmetro do ovo e 2200 a 3100 µm para o comprimento da larva. FELIZARDO *et al.* (2012) determinaram 1135,4±49,1 µm, e ENVAGELISTA

(2015) observou $611,61 \pm 31,54$ μm para o diâmetro dos ovos. O tamanho dos ovos e das larvas são afetados e modulados pelo estado nutricional das fêmeas durante o desenvolvimento ovariano (BROMAGE *et al.*, 1992), dado que explica a ligeira diferença entre os resultados obtidos neste trabalho e os dos outros autores.

Segundo SATO *et al.* (2006), o lambari-de-rabo amarelo é um peixe que produz muitos ovos por peso corporal, o diâmetro do ovo é pequeno e a larva recém-eclodida tem comprimento total pequeno, e, com base nestas características, o lambari foi classificado como pertencente ao grupo dos peixes com estratégia reprodutiva oportunista. Neste contexto, BAGENAL (1996) constatou que espécies com pequenos oócitos têm a alta fecundidade como uma estratégia reprodutiva para compensar a baixa taxa de sobrevivência das larvas produzidas em ovos pequenos. Não obstante, MCGURK (1986) realçou que a mortalidade de ovos está correlacionada com o tamanho do ovo, e DUARTE e ALCARAZ (1989) demonstraram que existe uma relação linear entre o tamanho da larva e o tamanho do ovo, isto é, o tamanho da larva aumenta com o aumento do tamanho do ovo, fato que foi visualizado neste trabalho, pois larvas provenientes de ovos grandes apresentaram maiores comprimentos total e padrão.

BONISLAWSKA *et al.* (2001) ressaltaram que ovos muito grandes podem ter suas taxas de sobrevivência e crescimento reduzidos nos estágios iniciais de desenvolvimento, pela menor eficiência no transporte de oxigênio, devido à maior proporção entre a superfície e o volume do ovo. Isto pode ter ocorrido neste trabalho, já que as taxas de eclosão ($49,54 \pm 9,36\%$) e sobrevivência ($28,79 \pm 7,44\%$) foram baixas, visto que o tamanho dos ovos encontrados neste estudo para a espécie em questão foram maiores do que os valores reportados pela literatura. Contrariamente, DUARTE e ALCARAZ (1989) referiram que larvas provenientes de ovos grandes têm maior chance de sobreviver, pois são capazes de nadar mais rápido e de se alimentarem de presas maiores e a duração do vitelo é maior, o que confere maior resistência das larvas à ausência de alimento.

Estudos mostraram que fêmeas que desovam pela primeira vez no seu ciclo reprodutivo, têm sua eficiência reprodutiva menor. BROMAGE e CUMARANATUNGA (1988) constataram que a sobrevivência dos ovos de truta arco-íris de fêmeas que ovularam pela primeira vez foi menor que a dos

ovos das fêmeas que desovaram no ano seguinte. Da mesma forma, NAVAS *et al.* (1995) reportaram que em épocas de desovas sucessivas de robalo Europeia (*Dicentrarchus labrax*) houve a melhoria da qualidade do ovo, assim como as taxas de eclosão e sobrevivência foram altas.

O índice gonadossomático (IGS) é usado como indicativo eficiente do estado funcional dos ovários dos peixes, pois existe uma relação direta do processo de maturação ovocitária com o aumento de volume das gônadas. Em machos, nem sempre este índice representa corretamente a condição reprodutiva, particularmente em peixes (VAZZOLER, 1996). Neste trabalho, o IGS médio encontrado para as fêmeas de todos os tratamentos foi $17,17 \pm 1,12\%$ e para os machos, $2,73 \pm 0,21\%$. Estes resultados encontram-se dentro dos intervalos reportados por PORTO-FORESTI *et al.* (2005) de 13 a 20% para as fêmeas e 2% a 5% para machos. Em lambaris alimentados com diferentes fontes lipídicas foi determinado IGS médio de 16,77% (GONÇALVES *et al.*, 2014). FELIZARDO *et al.* (2012), ao avaliar o efeito do momento da indução hormonal na atividade reprodutiva de *Astyanax altiparanae*, obtiveram $18,0 \pm 7,9\%$, e SATO *et al.* (2006) registraram $18,0 \pm 1,5\%$ ao estudar a biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae.

A determinação da condição corporal serve como indicativo da reserva de energia, com a expectativa de que um peixe tem de demonstrar altas taxas de crescimento, o potencial reprodutivo e a sobrevivência naquele ambiente (ROCHA *et al.*, 2008). No lambari, o fator de condição é maior nas fêmeas do que nos machos porque as fêmeas crescem mais rápido e são maiores do que os machos. RODRIGUES *et al.* (1992) concluíram que o fator de condição corporal de *A. altiparanae* diminuiu quando os índices gonadossomáticos atingiram o seu máximo pico de desenvolvimento. Tal ocorrência não foi visualizada neste trabalho porque a coleta das gônadas foi feita em um único período.

Trabalhos que relacionam a inclusão do DDGS nas dietas para reprodutores de peixes são escassos, porém em monogástricos, como suínos, SHI *et al.* (2014) apontaram o uso de 12,5% a 25% de DDGS em substituição parcial e total da farinha de soja nas dietas para porcas gestantes e lactantes, constatando que a inclusão de DDGS não afetou negativamente o desempenho das porcas e a composição do leite, visto que o consumo diário médio da ração e o ganho

de peso médio dos leitões aumentaram.

A avaliação do sêmen constitui uma ferramenta de fundamental importância na qualificação do potencial reprodutivo dos machos, pois permite a utilização do uso racional de gametas, bem como do número de reprodutores (BOMBARDELLI *et al.*, 2006). A média geral da concentração espermática ($4,9 \times 10^8 \pm 1,84 \times 10^8$ espermatozoide.mL⁻¹) obtida neste experimento é semelhante à reportada por YASUI *et al.* (2014), que obtiveram $6,2 \times 10^8 \pm 3,9 \times 10^8$ espermatozoide.mL⁻¹, e NASCIMENTO (2015), que registrou $6,75 \times 10^8 \pm 1,22 \times 10^8$ espermatozoide.mL⁻¹. O valor médio da viabilidade espermática obtida neste trabalho (98±0,90%) é superior ao registrado por NASCIMENTO (2015), que foi de 93,03±1,67%.

Os valores médios da motilidade espermática obtidos neste estudo foram inferiores aos encontrados por YASUI *et al.* (2014), que, ao avaliar o efeito da presença de fêmea e do tratamento hormonal na qualidade do sêmen de lambaris, verificaram que a motilidade espermática aumenta com o tratamento hormonal (hipófise de carpa) nos machos mantidos separados das fêmeas (77,1±15,1%), nos machos mantidos com fêmeas não induzidas com hormônio (70,6±15,1%) e nos machos mantidos com fêmeas induzidas (82,1±4,3%). Ainda, YASUI *et al.* (2014) observaram que as amostras de sêmen de peixes que apresentaram maior motilidade tinham baixa concentração espermática, ocorrência também constatada na presente pesquisa. KOPEIKA e KOPEIKA (2008) citaram que a análise da motilidade espermática indica a existência de variações genética e ambiental, o que pode justificar as diferenças observadas entre os estudos. A velocidade curvilínea, velocidade média de deslocamento e velocidade em linha reta dos espermatozoides foram altas, demonstrando que o potencial de fertilização dos machos é boa, pois a avaliação automatizada da motilidade dos espermatozoides é importante, devido ao fato de a cinética espermática ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides (ARRUDA *et al.*, 2011).

A identificação do estágio de maturação ovariano assegura o momento adequado para a indução dos reprodutores usando hormônio (FELIZARDO *et al.*, 2012). Relativamente aos peixes selecionados e induzidos à reprodução neste estudo foi constatado que todos estavam sexualmente maduros, fato confirmado pela análise histológica dos ovários e dos testículos. Os dados histológicos das fêmeas obtidos

neste trabalho estão de acordo com o reportado por CABRITA *et al.* (2009) e PRADO *et al.* (2011).

Os resultados do exame histológico dos machos corroboram o descrito por COSTA *et al.* (2014), os quais defendem que o desenvolvimento testicular do lambari-de-rabo amarelo compreende cinco fases, assim nomeadas: fase de testículos regredidos (incidência de células de Sertoli modificadas), fase inicial (epitélio germinativo formado por vários cistos e espermatogônias em diversos estágios de desenvolvimento), fase média (túbulos seminíferos alongados e descontínuos, poucas espermatogônias são encontradas na região basal do epitélio e poucos espermatozoides são visíveis no lúmen do túbulo), fase final (túbulos seminíferos alargados, epitélio germinativo descontínuo, estendendo-se para a periferia, quantidade da secreção aumentada no lúmen do túbulos anastomosados) e fase regressiva (espermatogônias associadas a células de Sertoli distribuídas no epitélio germinativo).

No presente estudo foi observado que os machos do tratamento 4 (30% de DDGS) histologicamente apresentavam muitos cistos de espermatogônias em vários estágios de desenvolvimento, comparativamente aos outros tratamentos, dado comprovado pelo alto valor médio de concentração espermática ($7,9 \times 10^8 \pm 1,8 \times 10^8$) e de índice gonadossomático (3,08%) obtidos para este tratamento, fenômeno que pode ter sido influenciado pela dieta oferecida, pois esta apresentava energia bruta maior do que a das outras dietas e, provavelmente, a energia digestível pode ter sido maior, apesar de calculada usando a matriz de formulação e de não ter sido feito o teste de digestibilidade de energia das dietas.

A mesma ocorrência foi observada por NAVARRO *et al.* (2006), no sentido de que dietas com níveis altos de energia digestível em rações para alevinos de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) intervêm no processo de desenvolvimento testicular, propiciando aumento da quantidade de espermatogônias e da produção de cistos de espermatogônias primárias e secundárias, rodeadas de muitas células de Sertoli. Tanto para as fêmeas como para os machos usados neste estudo, o desenvolvimento gonadal ocorreu normalmente, e os resultados histológicos confirmam a integridade dos tecidos reprodutivos.

CONCLUSÃO

As variáveis reprodutivas dos lambaris que receberam dietas com DDGS foram satisfatórias, mas a taxa de fertilidade inicial foi prejudicada com o aumento da inclusão do DDGS. Do ponto de vista histológico, o DDGS não influenciou negativamente o desenvolvimento e a morfologia das gônadas das fêmeas assim como dos machos, todavia os machos alimentados com a dieta de 30% apresentaram células espermáticas em abundância. Conclui-se, então, que a inclusão de até 30% de DDGS em dietas para reprodutores de lambaris-de-rabo-amarelo pode ser realizada sem prejuízos ao desempenho reprodutivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique (MCT/Mz), pela concessão de bolsa e ao CEPTA/ICMBio, pela colaboração na determinação dos parâmetros reprodutivos dos peixes.

REFERÊNCIAS

- AFZAL KHAN, M.; JAFRI A.K.; CHADHA, N.K. 2005 Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) *Aquaculture Nutrition*, 11:11-17.
- ARRUDA, M.A.; CARVALHO, H.F.; OLIVEIRA, L.Z.; NASCIMENTO, J.; SILVA, D.F.; AFFONSO, F.J.; LEMES, K.M.; JAIMES, J.D. 2011 Métodos de avaliação morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35: 145-151.
- ASLAKSEN, M.A.; KRAUGERUD, O.F.; PENN, M.; SVIHUS, B.; DENSTADLI, V.; JORGENSEN, H.Y.; HILLESTAD, M.; KROGDAHL, A.; STOREBAKKEN, T. 2007 Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. *Aquaculture*, 272: 541-555.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. 2000 *Official methods of analysis*, AOAC International. Maryland, USA.
- AYADI, F.Y.; MUTHUKUMARAPPAN K.; ROSENTRATER, K.A.; BROWN, M.L. 2011 Twin-Screw Extrusion Processing of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Feeds Using Various Levels of Corn-Based Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS), *Cereal Chemistry*, 88:363-374.
- AZEVEDO, P.; CANALE, L. 1938 A hipófise e sua ação nas gônadas dos peixes neotrópicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 9: 165-186.
- BAGENAL, T. 1996 The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*, 1: 167-182.
- BALON, E.K. 1975 Reproductive guilds of fishes: A proposal and definition. *Journal of Fish Biology*, 32: 821- 864.
- BARNES, M.E.; BROWN, M.L.; ROSENTRATER, K.A. 2012 Juvenile rainbow trout responses to diets containing distillers dried grain with solubles, phytase, and amino acid supplements, *Journal of Animal Sciences* 2: 69-77.
- BOMBARDELLI, R.A.; SYPPERRECK, M.A.; SANCHES, E.A. 2006 Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, 9: 59-65.
- BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; KORZELECKA-ORKISZ, A.; WINNICKI, A. 2001 Fish egg size variability: biological significance. *Electronic Journal of Polish Agriculture Universities*, 4: 2, Disponível em: < <http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>>. Acesso em: 12 março 2016.
- BROMAGE, N.R.; CUMARANATUNGA, R. 1988 Egg production in the rainbow trout. In MUIR, J.F. e ROBERTS, R. *Recent Advances in Aquaculture*. London and Sydney: Croom Helm, p.63-138.
- BROMAGE, N.R.; JONES, J.; RANDALL, C.; THRUSH, M.; DAVIES, B.; SPRINGATE, J.; DUSTON, J.; BACKER, G. 1992 Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100:141-166.
- CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRÁEZ, P. 2009 *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. CRC Press Taylor, Group Boca Raton, London New York. p. 577.

- CHENG, Z.J.; R.W. HARDY. 2004 Nutritional value of diets containing distiller's dried grain with solubles for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Aquaculture*, 15: 101-113.
- COSTA, F.G.; ADOLFI, M.C.; GOMES, C.C.; JESUS, L.W.O.; BATLOUNI, S.R.; BORELLA M.I. 2014 Testes of *Astyanax altiparanae*: the Sertoli cell functions in a semicyclic spermatogenesis. *Micron*, 61: 20-27.
- COTAN, J.L.V.; LANNA, E.A.T.; BOMFIM, M.; DONZELE, J.; RIBEIRO, F.B.; SERAFINI, M.A. 2006 Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 634-640.
- DUARTE, C. M.; ALCARAZ, M. 1989 To produce many small or few large eggs: a size-independent reproductive tactic of fish. *Oecologia*, 80: 401-404.
- EL-SAYED, A.F.M. 1999 Alternative dietary protein source for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 179: 149-68.
- EVANGELISTA, M.M. 2015 *Manipulação de Horas de Luz e Temperatura da Água na Reprodução induzida de Astyanax Altiparanae Durante o Inverno*. São Paulo. 49 f. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, APTA). Disponível em: < <http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes.pg.php> > Acesso em: 11 jan. 2016.
- FELIZARDO, V.O. MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; LÓPEZ, P.A.; FREITAS, R.T.F.; FERREIRA, M.R. 2012 Effect of timing of hormonal induction 26 on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, 77: 1570-1574.
- FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; FREITAS, M.B.D. 2014 Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the Aquaculture Society*, 45: 28-34.
- FURUYA, W.M. 2010 *Tabela brasileiras para nutrição da tilápia*. 1a edição. Editora Gráfica. 100 p.
- GARUTTI, V. 1989 Contribuição ao comportamento reprodutivo de *Astyanax bimaculatus* (Ostariophysi Characidae), em cursos de água da bacia do rio Paraná. *Revista Brasileira*, 49: 489-95.
- GODINHO, H.P. 2007 Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, 31: 351-360.
- GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. 2014 The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, 45: 195-203.
- HERTRAMPF, J.W.; PIEDAD-PASCUAL, 2000 *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts. 115-124 p.
- KOPEIKA, E.; KOPEIKA, J. 2008 Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. In: ALAVI, S.N.H.; COSSON, J.J.; COWARD, K.; RAFIEE G. *Fish Spermatology*. Alpha Science International, Oxford, UK, 347: 397 p.
- LEE, K.J.; RINCHARDA, J.; DABROWSKIA, K.; BABIAKA, I.; OTTOBREC, J.S.; CHRISTENSENA, J.E. 2006 Longterm effects of dietary cottonseed meal on growth and reproductive performance of rainbow trout: *Three-year study*, *Animal Feed Science Technology*, 126: 93-106.
- LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY M.; KLESZIUS P.H. 2009 Growth response and resistance to *Edwardsiella ictaluri* of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing distiller's dried grains with solubles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40: 182-193.
- MCGURK, M.D. 1986 Natural mortality of marine pelagic fish eggs and larvae: role of spatial patchiness. *Marine Ecology Progress Series*, 34: 227-242.
- METCO, J. 1986 Intracellular amino acid levels as predictors of protein synthesis. *The Journal of the American College of Nutrition*. 5: 107-120.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M.C.; PAVANELLI, C.S. 2001 *Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação*. Maringá: Eduem, 378 p.
- NASCIMENTO, N.F. 2015 *Desempenho zootécnico e caracterização da linhagem germinativa de*

- peixes diploides e triploides de lambari (*Astyanax altiparanae*) 79f (Dissertação de Mestrado Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal). Disponível em <http://www.caunesp.unesp.br/#!/pos-graduacao/dissertacoes/> Acessado em 30 dez. 2015.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2011 *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. The National Academies. 3 -10p.
- NAVARRO, M.P.; BARROSO, D.E.; CASTILLO, S.M.; BLANCO, D.A.; LOZANO, M.; ARTELES, H.J.L.; CHESA, P.N. 2010 An analysis of our experience in cryopreservation of 78 semen from cancer patients. *Actas Urológicas Española*, 1: 101 - 105.
- NAVARRO, R.D.; DA SILVA, R. F.; FILHO, O. P.R.; CALADO, L. L.; REZENDE, F. P.; SILVA C. S.; SANTOS, L. C. 2006 Níveis de energia digestível na dieta de piaçu no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval. *Zootecnia Tropical*, 24: 153-163.
- NAVAS, J. 1995 The effect of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In GOETZ, F.W. and THOMAS, P. *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. Austin. p. 108-110.
- PELISSERO, C.; LE MENN, J.F.; KAUSHICK, S. 1991 Estrogenic Effect of Dietary Soya Bean Meal on Vitellogenesis in Cultured Siberian Sturgeon *Acipenser baeri*. *General and Comparative Endocrinology*, 83: 447-457.
- PEREIRA, T.G.; OLIVA-TELES, A. 2003 Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquaculture Research*, 34: 1111-1117.
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; FOREST, F. 2005 Biologia e criação do lambarido-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. *Especies Nativas Para Piscicultura No Brasil*. Santa Maria. p. 101-115.
- PRADO, P.S.; SOUZA, C.C.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. 2011 Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 1879-1887.
- RAHMA, M.M.; CHOI, J.; LEE, S. 2013 Use of Distillers Dried Grain as Partial Replacement of Wheat Flour and Corn Gluten Meal in the Diet of Juvenile Black Seabream (*Acanthopagrus schlegeli*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 699-706
- ROCHA, M.A.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I.Y.; BOROSKY, J.C.; ANTUNES, M.I.P.P. 2008 Comparações entre famílias de meio irmãos paterno através do fator de condição de Fulton, alométrico e a taxa de crescimento em curimatá (*Prochilodus lineatus*). *Ciências Agrárias*, 29: 947-954.
- RODRIGUES, A.M.; CAMPOS, E.C.; DOS SANTOS, R.A.; JÚNIOR, J.M.; CAMARA, J.J.C. 1992 Tipo de desova e fecundidade do tambuí *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Pisces, Characiformes, Characidae), na Represa de Ibitinga, Estado de São Paulo, Brasil. *Brazilian Journal veterinarian Research and Animal Science*, 29: 309-315.
- ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M. 1990 Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, 86: 105-110.
- ROYCE, W.F. 1972 *Introduction to the fishery science*. Academic Press, New York 72 p.
- RURANGWA, E. 2001 Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer assisted system sperm analysis (CASA), viable staining and standardizing fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology*, 55: 751-769.
- SALARO, A.L.; CAMPELO, D.A.V.; PONTES, M.D.; ZUANON, J.A.S.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. 2015. Avanços na nutrição e produção de lambaris. In: TAVARES-DIAS, M. e MARIANO, W.S. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos. p. 491-502.
- SANCHES, E.A.; MARCOS, R.M.; BAGGIO, D.M.; TESSARO L.; BALEN, R.E.; BOMBARDELLI, R.A. 2011 Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermatócrito. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40:1163-1167.
- SANCHES, E.A.; TESSARO, L.; NEUMANN, G.; TOLEDO, C.P.R.; BOMBARDELLI, R.A.; ROMAGOSA, E. 2010 Parâmetros de Motilidade Espermática de *Rhamdia Quelen* Avaliados entre 10 e 14 Segundos Pós-Ativação. II Simpósio Nacional

- de Engenharia de Pesca e XII Semana Acadêmica de Engenharia de Pesca – 30 de agosto a 03 de setembro. *Anais...* Toledo, Paraná, 1 CD-ROM.
- SANTOS, G.B.; BARROS L.N.V.; MENEZES M.U. 1996 Fecundity of the *Astyanax bimaculatus* (Reinhardt, 1874) (Teleostei, Characidae) from Upper Rio São Francisco basin, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 48: 101-108.
- SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H.P. 2003 Reprodução induzida de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H.P. e GODINHO, A.L. *Águas e peixes no São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte, p.275-290.
- SATO, Y.; SAMPAIO, E.V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J.R. 2006 Biologia Reprodutiva e Reprodução de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da Bacia de São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23: 267-273.
- SHI, Z.; WANG, L.; SU, B.; SHAN, A. 2014 The influence of distillers dried grains with solubles during gestation on sow productivity and milk composition. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 600-603.
- TIDWELL, J.H.; COYLE, S.D.; VANARNUM, A.; WEIBEL, C.; HARKINS, S. 2000 Growth, survival, and body composition of cage cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed pelleted and unpelleted distillers grains with solubles in polyculture with freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31:627-631.
- VAZZOLER, A.E.A.M. 1996 *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e prática*. Núcleo de Pesquisas em Limnologia Ictiologia e Aquicultura. Maringá, 169p.
- VILELA, C.; HAYASHI, C. 2001 Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 23: 491-496.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. 1980 *The artificial propagation of warm-water finfishes-manual of extensions*. FAO, Fisheries Technical Paper, Rome, p. 1-183.
- WU, Y.V.; ROSATI, R.R.; BROWN, P.B. 1996 Effect of diets containing various levels of protein and ethanol coproducts from corn on growth of tilapia fry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44:1491-1493.
- WU, Y.V.; ROSATI, R.R.; SESSA, D.J.; BROWN, P.B. 1994 Utilization of protein-rich ethanol co-products from corn in tilapia feed. *Journal of American Oil Chemists Society*, 71:1041-1043.
- YASUI, G.S.; SANTOS, M.P.; NAKAGHI, L.S. O.; SENHORINI, J.A.; ARIAS RODRIGUEZ, L.; FUJIMOTO, T.; SHIMODA, E.; SILVA, L.A. 2014 Improvement of gamete quality and its sperm storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *The Animal Consortium*, 9: 464-470.
- ZHOU, P.; ZHANG, W.; DAVIS, D.A.; LIM C. 2010 Growth response and feed utilization of juvenile hybrid catfish fed diets containing distiller's grains with solubles to replace a combination of soybean meal and corn meal. *North American Journal of Aquaculture*, 72:298-303.