

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 30/03/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA



CAMPUS DE JABOTICABAL

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

Jaboticabal, São Paulo
2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

**Jaboticabal, São Paulo
2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

Orientador: Elizabeth Romagosa

Co-orientador: Giovani Sampaio Gonçalves

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

**Jaboticabal, São Paulo
2016**

R484d Ribeiro, Manoel Joaquim Peres
Dietas práticas para reprodutores de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* / Manoel Joaquim Peres Ribeiro. -- Jaboticabal, 2016
vii, 54 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2016

Orientador: Elizabeth Romagosa

Coorientador: Giovani Sampaio Gonçalves

Banca examinadora: Leonardo Tachibana, Neuza Sumico

Takahashi, Renata Guimarães Moreira, Vander Bruno Dos Santos

Bibliografia

1. Nutrição. 2. Desempenho reprodutivo. 3. Sêmen. 4. Pós-larvas.
I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.03

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

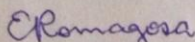
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Dietas praticas para reprodutores de tilápia-do-Nilo.

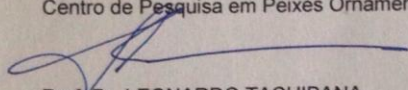
AUTOR: MANOEL JOAQUIM PERES RIBEIRO

CO-ORIENTADOR: GIOVANI SAMPAIO GONCALVES

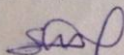
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



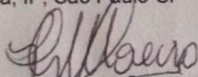
Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA
Centro de Pesquisa em Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



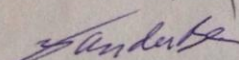
Prof/Dr. LEONARDO TACHIBANA
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



Profa. Dra. NEUZA SUMICO TAKAHASHI
Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA
Departamento de Fisiologia Geral / Instituto de Biociências, IB/USP, São Paulo-SP



Prof. Dr. VANDER BRUNO DOS SANTOS
Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP

Jaboticabal, 30 de março de 2016

Sumário

Agradecimentos.....	viii
Apoio financeiro	1
1. Resumo	2
2. Abstract.....	3
3. Introdução.....	4
4. Objetivos.....	5
4.1. Objetivo geral	5
4.2. Objetivos específicos	5
5. Referências.....	7
Desempenho reprodutivo de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína.....	9
1. Resumo	9
2. Abstract.....	10
3. Introdução.....	11
4. Material e métodos	12
4.1. Localização e período	12
4.2. Análise da água.....	12
4.3. Desenho experimental	12
4.4. Dietas experimentais.....	13
4.5. Coleta de ovos	14
4.6. Coleta de sêmen	15
4.7. Coleta e análises de sangue	15
4.8. Análise estatística	16
5. Resultados.....	16
5.1. Análise da água.....	16
5.2. Parâmetros morfométricos	16
5.3. Parâmetros reprodutivos	17
5.4. Parâmetros sanguíneos	19
6. Discussão	20
7. Agradecimentos.....	23
8. Referências.....	24
Reprodutores de tilápia-do-nilo de uma piscicultura comercial alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína	28
1. Resumo	28
2. Abstract.....	29

3. Introdução.....	30
4. Material e métodos	31
4.1. Localização e período	31
4.2. Análise da água.....	31
4.3. Desenho experimental	31
4.4. Dietas experimentais.....	32
4.5. Coleta de ovos	33
4.6. Coleta de sêmen	34
4.7. Coleta de larvas	35
4.8. Coleta e análises de sangue	35
4.9. Análise estatística	35
4.10. Análise econômica	36
5. Resultados.....	37
5.1. Análise da água.....	37
5.2. Parâmetros morfométricos	37
5.3. Parâmetros reprodutivos	38
5.4. Parâmetros sanguíneos	42
5.5. Análise econômica	43
6. Discussão	43
7. Agradecimentos.....	47
8. Referências.....	48
9. Perspectivas Futuras	52

Dedico

À minha avó Olezia, alicerce de nossa família, mulher das orações, o maior exemplo.

Ao meu irmão, meu parceiro, meu brother, mais novo do que eu, porém, como aprendo com esse cara.

Ao meu pai, meu amigo, um homem bom, apoiador nos meus caminhos, a referência para a formação do meu caráter.

À minha noiva, companheira de sempre, para sempre. Um dos pilares que me sustentam.

E a ela, minha maior incentivadora, nunca deixou a peteca cair, sempre rezando e dizendo uma palavra de otimismo, positivismo ali corre nas veias. É MÃE como tem que ser. Ensina o correto. Anda junto, sofre junto... saboreia a vitória junto!

Pois eu, o Senhor, teu Deus, eu te
seguro pela mão e te digo: Nada
temas, eu venho em teu auxílio.
Isaías 41:13

Agradecimentos

À minha família, pelo apoio, conselhos, orações, pelas gostosas prosas aos sábados na casa da Vó, por me dar um teto quando longe de casa, por aquela ajuda financeira que sempre dava uma desafogada, por sempre estarem torcendo pelo meu sucesso.

“A casa é feita de pedra e a família é feita de amor”.

À minha noiva... esposa Suelen (está quase), pela paciência, companheirismo, por ser uma grande incentivadora do meu trabalho e pela ajuda crucial nas minhas tabelas...você é muito boa nisso! Muito obrigado por estar sempre ao meu lado, me fazendo mais forte nas batalhas e mais feliz nas vitórias. Te amo.

À Minha orientadora e amiga Elizabeth Romagosa, que me acolheu e confiou no meu trabalho. Por ser uma pesquisadora dedicada e íntegra, nas coletas sempre agarrada ao trabalho, faça sol ou chuva, calor ou frio, um exemplo a ser seguido. Sempre disposta a uma boa prosa. Obrigado pelos ensinamentos Beth, minha mãe acadêmica.

Ao meu orientador e amigo Giovani S. Gonçalves, uma grande pessoa, pesquisador competente, sabe muito. Agradeço por todos os ensinamentos e incentivos, por indicar-me um norte no caminho das pedras da vida profissional, por não me deixar desistir! Obrigado por, juntamente a Cíntia, sua esposa, sempre terem me dado “janta” e pouso, não foram poucas vezes. Sempre os tenho em minhas orações.

À “grande equipe”: Guilherme S. Telli, Raissa B. Cavalcanti, Mariana M. Evangelista, Mayara Moura, Thaís Ferreira e Ednara Araújo, companheiros do dia a dia nos experimentos, sempre dispostos a ajudar, não importava quando e como. Ímpares em suas qualidades. Torço para encontrar mais pessoas assim no meu caminho.

À Apta de Pirassununga, seus funcionários e pesquisadores, por possibilitarem e ajudarem na execução do meu projeto.

Aos colegas Leonardo Tachibana, Daniele de Carla Dias, Eduardo A. Sanches, Renan Okawara, Daniela Damaceno e Mariene Natori pela fundamental ajuda durante as coletas.

Ao Instituto de Pesca de São José do Rio Preto, seus funcionários e pesquisadores, pela grande ajuda no processamento das rações, não foram poucos quilos.

À Piscicultura Peixe Vivo e todos os seus funcionários pela ajuda na execução do projeto e aos proprietários Assis Castelan, Assis Henrique Castelan e Emerson Esteves por cederem toda a infraestrutura necessária para a realização do experimento e por acreditarem na pesquisa como importante ferramenta para o desenvolvimento da aquicultura.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp, seu programa de pós graduação sob coordenação do Dr. Sérgio R. Batlouni e vice Dr. Rafael H. Nóbrega, e seus funcionários Veralice Cappatto e David Oliveira Lorente, pessoas sempre prontas a nos socorrer e nos auxiliar nas dificuldades burocráticas da vida.

Aos colegas do Caunesp, toda a turma, que frequentaram junto comigo as disciplinas, fazendo com que as semanas de estudos fossem mais agradáveis. Em especial ao Matheus Medeiros e Daniel Cala (Colômbia), que me acolheram em suas casas.

Por último agradeço a Deus por colocar em meu caminho todas as pessoas acima mencionadas e com isso possibilitar a realização de um sonho.

“Não necessito de tudo, nem quero tudo, quero apenas o que preciso ai sim terei tudo.”

(Waldir Peres)

Apoio financeiro

CAPES-DS Bolsa de doutorado

Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo – Auxílio à Pesquisa-Regular:
Processo 2013/24474-1

Dietas práticas para reprodutores de tilápia-do-nilo

1. Resumo

Um dos desafios da cadeia produtiva da tilápia é determinar qual a dieta mais adequada de modo a garantir a melhor eficiência reprodutiva. Os experimentos avaliaram o desempenho reprodutivo de tilápias-do-nilo, alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta (PB) em duas etapas (I e II): ***I-Unidade experimental***, utilizando quatro dietas (32, 38, 44 e 50% de PB). Observou-se resultados de motilidade (MOT), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média do deslocamento (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) significativos no sêmen dos machos até uma inclusão de 44% de PB, porém, não foram verificados benefícios relevantes nas fêmeas, sendo que, para todos os tratamentos apresentaram os parâmetros reprodutivos: volume de ovos, número de ovos e fecundidade absoluta sem diferença significativa ($p>0,05$). ***II-Piscicultura comercial***, utilizando quatro dietas experimentais (32B, 38, 44 e 50% PB) e duas comerciais (32A e 36% PB). Não foram encontrados resultados significativos no desempenho reprodutivo das fêmeas (volume de ovos, fecundidade absoluta e número de ovos produzidos), no entanto, observando os parâmetros avaliados nos machos (MOT, VCL, VAP e VSL) o crescimento e a sobrevivência significativa ($p<0,05$) das larvas, propõe-se a utilização de dietas contendo 44% de PB em rações para matrizes de tilápia-do-nilo, a fim de se obter resultados satisfatórios na produção em escala comercial.

1.1. Palavras-chave: nutrição, desempenho reprodutivo, hematologia, sêmen, pós-larvas.

Practical diets for broodstock Nile tilapia

2. Abstract

One of the challenges of the tilapia reproductive chain is to determine the most appropriate diet in order to ensure better reproductive efficiency. The experiments evaluated the reproductive performance of Nile tilapia fed with different levels of crude protein (CP) in two stages (I and II): I-experimental unit, using four diets (32, 38, 44 and 50% CP). There was a positive response for males up to 44% CP, however, there have not been verified significant benefits in females. II-commercial fish farming, using four experimental diets (32B, 38, 44 and 50% CP) and two commercial diets (32A and 36% CP). There were no significant results on females reproductive performance, however, observing the parameters evaluated in males and the significant growth of the larvae, it is proposed the use of diets containing 44% crude protein in diets for broodstock Nile tilapia, in order to obtain satisfactory results in the production on a commercial scale.

2.2. Keywords: nutrition, reproductive performance, hematology, semen, post larvae

3. Introdução

A aquicultura é o setor de produção de alimentos que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período de 2009 a 2014 (MPA, 2014), neste segmento, a produção de tilápia, apresentou crescimento anual entre 20-25% (Ng & Romano, 2013). Em 2014 a produção movimentou aproximadamente R\$ 1 bilhão com 198,49 mil toneladas despescadas, o equivalente a 41,9% do total da piscicultura do país, sendo que do total produzido, 99% é consumido internamente (IBGE, 2014).

Neste sentido, o investimento em pesquisas direcionadas para um maior desenvolvimento da aquicultura se faz necessário, principalmente na produção de larvas e juvenis, e tendo-se em vista a alta demanda decorrente do crescimento na produção intensiva, torna-se um dos grandes desafios da cadeia produtiva da tilápia (Lupatsch et al., 2010).

Um dos principais pontos envolvidos na reprodução de peixes é relacionado à nutrição dos reprodutores, na qual as rações utilizadas desempenham função vital na oferta de nutrientes essenciais à qualidade dos gametas, ao desenvolvimento gonadal e sucesso dos ovos e larvas, especialmente no cultivo de tilápias (Siddiqui et al., 1998; Lupatsch, 2010).

Gunasekera et al. (1996) observaram que fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo 35% de proteína bruta (PB) e 4.810 kcal, obtiveram melhores resultados reprodutivos em comparação aos tratamentos com 10 e 20% PB e 4.570 e 4.690 kcal, respectivamente, porém somente foi observada diferença significativa para a viabilidade das larvas. Entretanto, Siddiqui et al. (1998), avaliaram o desempenho reprodutivo de tilápias-do-nilo utilizando cinco tratamentos (25, 30, 35, 40 e 45% de PB com 3.100 Kcal) e, verificaram que as rações contendo 45% de PB demonstraram valores mais elevados das taxas de fecundidade (12.665 ovos/fêmea) em relação ao tratamento com 25% de PB (9.535 ovos/fêmea), porém sem significância.

Lupatsch et al. (2010), testaram três manejos alimentares, sendo máxima ingestão de alimento (*ad libitum*), média ingestão (calculou-se metade da ingestão máxima) e restrição alimentar, com rações que continham 40% de PB e 4.500 kcal. Constataram que as fêmeas alimentadas até a saciedade apresentaram quantidade de ovos/kg de peixe maior em relação aos outros tratamentos (1,13; 0,97; 0,73, respectivamente). Analisando-se a composição bromatológica dos ovos, puderam concluir que para tilápias com peso médio de até 300g, uma dieta contendo 33% de proteína digestiva e 3.821 kcal foi suficiente para um ótimo desempenho reprodutivo.

Estudos avaliando a nutrição em reprodutores de tilápia vêm sendo realizados, porém, os resultados são questionáveis e contraditórios por serem conduzidos em

ambientes fechados e climatizados, realizados em um curto espaço de tempo, não podendo ser aplicados diretamente no campo. São baseados essencialmente em dietas utilizando albumina ou caseína, deficiente em aminoácidos essenciais, não sendo uma dieta prática possível de ser aplicada nas indústrias de ração (El-Sayed, 2004).

Recentemente uma revisão realizada por Ng e Romano (2013) mostrou que a maioria dos experimentos recomenda a utilização de 30-40% PB para reprodutores de tilápia-do-nilo. Entretanto, para as indústrias de rações, assim como para os produtores, estes valores são extremamente amplos. Esta diferença de 10% de PB pode equivaler a um significativo aumento ou decréscimo no custo final de produção por tonelada de ração. Obviamente não se torna rentável o investimento, sendo que as próprias empresas não têm onde se apoiar cientificamente para justificar estes valores, ficando impraticável a manutenção de uma linha de rações para reprodutores (Grupo Âmbar Amaral - Raguife Rações[®], Santa Fé do Sul - SP). Esta falta de informação leva os produtores a utilizar uma ração comercial de engorda, com 32% de PB para alimentar seus reprodutores, deixando de utilizar uma ração específica que possa promover o máximo desempenho reprodutivo.

8. Referências

- Al-Hafedh, Y. S., 1999. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 30, 385-393.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1980. *Official Methods of Analysis*. 14th ed., Washington, EUA, 1018 pp. AOAC, Arlington.
- Ayroza, L.M.S., Romagosa, E., Ayroza, D.M.M.R., Scorvo Filho, J.D., Salles, F.A., 2011. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40(2): 231-239.
- Coward, K. and Bromage, N. R., 1999. Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first feeding to sexual maturity. *Aquatic Living Resources* 12, 11-22.
- Coward, K., Bromage, N.R., 2000. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Fish Biology* 10, 1-25.
- Da Silva, S. S., Nguyen, T. T. T., Ingram, B. A., 2008. Fish reproduction in relation to aquaculture. p. 535-575. In: *Fish Reproduction*. Rocha, M. J.; Arukwe, A. and Kapoor, B. G., ed. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
- El-Sayed, A.-F.M., Kawanna, 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture* 80, 179-184.
- El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R., Ezzat, A.A., 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 220, 619-632.
- Furuya, W. M., 2010. *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. 1^o Ed. Toledo: GFM, 100 p.
- Furuya, W.M., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Cyrino, J.E.P., 2013. Exigências nutricionais e Alimentação da tilápia. In: Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. (Eds), *Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Editora Copiart Ltda, Florianópolis, Santa Catarina, pp.167-179.
- Goldenfarb, L.M., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. Journal of Clinical Pathology* 56 (1), 35-39.

- Gunasekera, R.M., Shim, K.F., Lam, T.J., 1996. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 146, 245–259.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Falacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25–42.
- Lupatsch, I., Deshev R., Magen, I., 2010. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 41, 763-769.
- Martin, N.B., Serra, R., Antunes, J.F.G., Oliveira, M.D.M., Okawa, H., 1994. Sistema de custo de produção agrícola. *Informações Econômicas* 24, 97-122.
- Matsunaga, M.; Bemelmans, P.F.; Toledo, P.E.N.; Dulley, R.D.; Okawa, H.; PEDROSO, I.A., 1976. Metodologia de custo de produção utilizado pelo IEA. *Agricultura em São Paulo* 23: 123-139.
- National Research Council – NRC. Nutrient Requirement of Fish and Shrimp. Washington: National Academy Press, 2011. 115 p.
- Navarro, R.D., Navarro, F.K.S., Felizardo, V.O., Murgas, L.D.S., Pereira, M.M., 2014. Cryopreservation of semen of Thailand tilapia (*Oreochromis* spp.) fed diet with different oil sources. *Acta Scientiarum Technology* 36 (3), 399-404.
- Ng, W.K., Romano, N., 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Review in Aquaculture* 4, 1-35.
- Ng, W.K., Wang Y., 2011. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or lin seed oil. *Aquaculture* 314, 122–131.
- Oliveira, M. M., Ferreira, M. R., Goulart, M. B., Felizardo, V. O., Murgas, L. D. S., Andrade, E. S., Allaman, I. B., Veras, G. C., Costa, D. V., Rosa, P. V., 2015. Effect crude protein levels on the broodstock spermatid quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *American Journal of Experimental Agriculture* 5 (3), 192-199.
- Oliveira, M.M., Ribeiro, T., Orlando, T. M., Oliveira, D.G.S., Drumond, M.M., Freitas, R. T. F., Rosa, P.V., 2014. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 150, 62-69.
- Rana, K. J. 1990. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry: I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture* 87, 165-181.

- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. 1ª ed., Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. 135 p.
- Rosenfeld, G., 1947. Corante pancrônico para hematologia e citologia clínica. Nova constituição dos componentes do May Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. Memórias do Instituto Butantã 20: 329-334.
- Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Marcos, R. M., Neumann, G., Toledo, C. P. R., Romagosa, E., 2010. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. Aquaculture Research 42, 153-156.
- Sanches, E. A., Marcos, R. M., Okawara, R. Y., Caneppele, D., Bombardelli, R. A., Romagosa, E., 2013. Sperm motility parameters for *Steindachneridion parahybae* based on open-source software. Journal of Applied Ichthyology. 29, 1114-1122.
- Schulz RW, França LR, Lareyre JJ, LeGac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega RH, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. General and Comparative Endocrinology, 165, p.390-411.
- Siddiqui A.Q., Al-Harbi A.H., Al-Hafedh Y.S., 1997. Effects of food supply on size at first maturity, fecundity and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) *Oreochromis aureus* (Steindachner), in outdoor concrete tanks in Saudi Arabia. Aquaculture Research 28, 341–349.
- Siddiqui, A.Q., Al-Hafedh, Y.S., Ali, S.A., 1998. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research 29, 349 – 358.
- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., Dias, D.C., Sussel, F.R, Ishikawa, C.M., Tachibana, L. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile *Oreochromis niloticus* raised at a different stocking densities. Fish & Shellfish Immunology 39, 305-311.
- Trewavas, E., 1983. Tilapiine Fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum (Natural History). London, 583 p.
- Vazzoler, A.E.A.M. 1996. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, São Paulo, Sociedade Brasileira de Ictiologia, 196p.
- Washburn, B., S., Frye, D., J., Hung, S., S., O., Doroshov, S., I., Conte, F., S., 1990. Dietary effects on tissue composition, oogenesis and reproductive performance of female rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*. Aquaculture 90, 179-195.

- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2006. Manual for CASA aplicativo for Image J.
Avaliable in: <<<http://rsbweb.nih.gov/ij/aplicativos/docs/CASAINSTRUCTIONS.pdf>>>
Access in Sept, 14, 2009.
- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2007. Development of a novel CASA system based
on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters.
Theriogenology 67, 661-672.