

**Universidade Estadual Paulista – UNESP**  
**Centro De Aquicultura da UNESP – CAUNESP**

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DO LAMBARI-  
DO-RABO-AMARELO (*Astyanax lacustris*)  
CRIADOS EM DIFERENTES SISTEMAS  
FECHADOS DE PRODUÇÃO**

**Janaína Sayuri Imafuku Valandro**

Jaboticabal – São Paulo

2023

**Universidade Estadual Paulista – UNESP**  
**Centro De Aquicultura da UNESP – CAUNESP**

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DO LAMBARI-  
DO-RABO-AMARELO (*Astyanax lacustris*)  
CRIADOS EM DIFERENTES SISTEMAS  
FECHADOS DE PRODUÇÃO**

**Janaína Sayuri Imafuku Valandro**

**Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antônio Sanches**

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

Jaboticabal, São Paulo

2023

V136d Valandro, Janaína Sayuri Imafuku  
Desempenho reprodutivo do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*)  
criados em diferentes sistemas fechados de produção / Janaína Sayuri Imafuku  
Valandro. -- Jaboticabal, 2023  
vi, 77 p. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de  
Aquicultura, 2023

Orientador: Eduardo Antônio Sanches

Banca examinadora: Carlos Augusto Prata Gaona, Jayme Aparecido Povh  
Bibliografia

1. Digestibilidade. 2. Desempenho produtivo. 3. *Colossoma macropomum*. I.  
Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3:636.085.2


**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**


**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Desempenho reprodutivo do Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) criados em diferentes sistemas fechados de produção

**AUTORA: JANAÍNA SAYURI IMAFUKU VALANDRO**

**ORIENTADOR: EDUARDO ANTÔNIO SANCHES**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES (Participação Presencial)  
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Unesp, Registro-SP / FCAVR/Unesp, Registro-SP

  
Prof. Dr. CARLOS AUGUSTO PRATA GAONA (Participação Presencial)  
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Unesp, Registro-SP / FCAVR/Unesp, Registro-SP

  
Prof. Dr. JAYME APARECIDO POVH (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2023

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho a todos os que me  
ajudaram ao longo desta caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao universo por me dar forças e proteção durante a vida.

Ao meu avô Henrique (*in memoriam*), minha inspiração de vida.

Aos meus pais Sandra e Vanderlei, ao meu irmão Heitor e minha madrastra Gláucia, sem vocês nada disso seria possível.

A minha segunda família Neide, Shiniti, Monize, Otávio e Tamy, por toda a motivação e acolhimento.

A minha amada sobrinha Helena, você já é luz nas nossas vidas.

Ao meu namorado Felipe por todo amor, compreensão, companheirismo e motivação em todas as etapas dessa dissertação.

Ao grupo de pesquisa do Prof. Dr. Eduardo A. Sanches – UNESP e a todos que de alguma forma apoiaram e ajudaram no desenvolvimento do projeto, sem o auxílio de todos nada disso seria possível!

Ao meu Prof<sup>o</sup> Orientador Eduardo Antônio Sanches por todo conhecimento, dedicação, incentivo, acolhimento e principalmente por sempre acreditar no meu potencial.

Ao Prof<sup>o</sup> Carlos Gaona pelo auxílio e paciência ao decorrer do experimento.

A Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Regional do Vale do Ribeira (APTA) por intermédio da Camila Fernandes Corrêa pelo fornecimento dos exemplares necessários para execução deste trabalho.

As amigas conquistadas ao longo do caminho, em especial à: Ana Regina, Júlia Pohl, Wanessa Inacio, Erica Eloy e Vinicius Zabotto.

A Universidade Estadual Paulista pela disponibilidade dos materiais e do laboratório de Aquicultura para a realização deste trabalho.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) pelos ensinamentos transmitidos durante esses 2 anos de pós-Graduação.

E por fim, à CNPq pela concessão da bolsa para elaboração do trabalho, sendo fundamental para a conclusão do mesmo (N<sup>o</sup> do processo: 131668/2021-8).

## **EPÍGRAFE**

*“Quanto mais eu estudo a natureza, mais eu fico maravilhado  
com as obras do Criador. A ciência me aproxima de Deus”.*

*Louis Pasteur*

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1 Croqui do delineamento experimental durante o inverno. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias; ..... 25
- Figura 2. Variação de temperatura ao decorrer do experimento no ambiente manipulado e no ambiente natural durante o inverno. .... 28
- Figura 3. Dados produtivos de oócitos de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) peso oócitos/fêmea (g); (B) Fecundidade absoluta; (C) Fecundidade relativa (oócitos/grama de fêmea); (D) Diâmetro dos oócitos ( $\mu\text{m}$ ). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias. .... 31
- Figura 4. Retilinearidade (STR) e motilidade espermática (MOT) obtidas em 10 segundo pós ativação em 100 frames de vídeo por meio do software livre ImageJ/plugin CASA para esperma de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) Retilinearidade (%); (B) Taxa de motilidade espermática (%). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $P < 0,01$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias. .... 34
- Figura 5. Motilidade espermática (MOT), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média da trajetória (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) obtidas em 30 segundo pós ativação em 100 frames de vídeo por meio do software livre ImageJ/plugin CASA para esperma de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) motilidade espermática (%); (B) velocidade curvilinear ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), velocidade média da trajetória ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), velocidade em linha reta ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e Oscilação (%). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30

dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias..... 36

Figura 6. (A) Percentual de fertilização de fêmeas de *Astyanax lacustris* mantidas em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno submetidas a extrusão em 30 dias. (B) Percentual de fertilização por frequência de classes de fêmeas de *Astyanax lacustris* mantidas em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno submetidas a extrusão. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Mann-Whitney..... 38

Figura 7. Número de ovos/mL na desova semi-natural em 30 dias de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste t-student. 39

## CAPÍTULO II

Figura 1. Croqui do delineamento experimental em cada tratamento: BFT: Tecnologia de Bioflocos (G1 = repetições); TANK: Tanque escavado lonado (G2 = repetições); RAS: Sistema de recirculação (G3 = repetições)..... 57

Figura 2. Processo para coleta do sêmen de machos de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos. .... 59

Figura 3. Processo realizado na fertilização à seco de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos. .... 60

Figura 4. Processo realizado na desova seminatural de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos. .... 60

Figura 5. Variação de temperatura ao decorrer do experimento nos diferentes sistemas produtivos. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis..... 61

Figura 6. Produção de oócitos de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. (A) peso oócitos (g); (B) Fecundidade absoluta (oócitos/fêmeas); (C) Fecundidade relativa (oócitos/grama de fêmea). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey. Tratamentos: BFT: tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado lonado; RAS: Sistema de recirculação. .... 66

Figura 7. Taxa de fertilização de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos submetidos a fertilização à seco. Letras diferentes nas barras indicam diferença ( $P < 0,05$ )

de acordo a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. BFT: tecnologia de bioflocos;  
TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação. .... 66

Figura 8. Dados produtivos de *Astyanax lacustris* submetidos a reprodução semi-natural. Letras diferentes nas barras indicam diferença ( $p < 0,05$ ) de acordo a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação. (A) volume total de ovos. (B) Fecundidade Absoluta. (C) Taxas de fertilização. .... 67

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1	Qualidade de água (média $\pm$ desvio padrão) ao longo do período experimental .....	29
Tabela 2.	Consumo de ração e parâmetros zootécnicos (média $\pm$ desvio padrão) de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.....	30
Tabela 3.	Integridade da membrana (média $\pm$ desvio padrão) e concentração espermática (média $\pm$ desvio padrão (mediana)) de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. ....	32
Tabela 4.	Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 10 segundos pós ativação de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.....	33
Tabela 5.	Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 30 segundos pós ativação de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.....	35

### CAPÍTULO II

Tabela 1.	Qualidade de água (média $\pm$ desvio padrão) dos sistemas produtivos mantendo reprodutores de <i>Astyanax lacustris</i> . ....	62
Tabela 2.	Consumo de ração e parâmetros zootécnicos (média $\pm$ desvio padrão) de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. ....	62
Tabela 3.	Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 10 segundos pós ativação de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. ....	63
Tabela 4.	Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 30 segundos pós ativação de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. ....	64
Tabela 5.	Integridade da membrana e concentração espermática (média $\pm$ desvio padrão) de machos de <i>Astyanax lacustris</i> mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. ....	65

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	ix
APOIO FINANCEIRO .....	xii
RESUMO GERAL .....	13
Prefácio.....	14
INTRODUÇÃO GERAL .....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	16
OBJETIVO GERAL .....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
CAPÍTULO I – Artigo .....	21
Avaliação dos parâmetros reprodutivos de Lambari-do-rabo-amarelo ( <i>Astyanax lacustris</i> ) em sistema de recirculação com fotoperíodo e temperatura manipulados durante o inverno*.....	21
RESUMO .....	21
1. INTRODUÇÃO.....	22
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.1.Delineamento experimental.....	24
2.2. Indução hormonal .....	25
2.3. Extrusão .....	25
2.3.1. Fêmeas .....	26
2.3.2. Machos .....	26
2.4. Desova seminatural.....	27
2.5. Análise Estatística .....	27
3. RESULTADOS .....	28
4. DISCUSSÃO .....	39
5. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	43
CAPÍTULO II – Artigo.....	53
Desempenho reprodutivo de Lambari-do-rabo-amarelo ( <i>Astyanax lacustris</i> ) mantido em sistema de bioflocos, tanque escavado e recirculação.....	53
RESUMO .....	53
1. INTRODUÇÃO.....	54
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	55

2.1. Delineamento experimental.....	56
2.2. <i>Indução hormonal</i> .....	57
2.3. <i>Extrusão</i> .....	57
2.3.1. <i>Machos</i> .....	57
2.3.2. <i>Fêmeas</i> .....	59
2.4. <i>Desova seminatural</i> .....	60
2.5. <i>Análise Estatística</i> .....	61
3. RESULTADOS .....	61
3.1. <i>Qualidade de água</i> .....	61
3.2. <i>Parâmetros Zootécnicos</i> .....	62
3.3. <i>Machos</i> .....	63
3.4. <i>Fêmeas</i> .....	65
3.5. <i>Desova seminatural</i> .....	67
4. DISCUSSÃO .....	67
5. CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	70

## **APOIO FINANCEIRO**

CNPq – Processo nº 131668/2021-8

APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Regional do Vale do Ribeira,  
pelo fornecimento dos animais.

## RESUMO GERAL

Na piscicultura o fator decisivo para o sucesso do empreendimento é conhecer e dominar os ciclos de vida do animal, dentre eles a reprodução. Para isso, se torna necessário aplicar alternativas para a obtenção de ovos e alevinos fora do período reprodutivo. Outro fator em debate é a intensificação das produções aquícolas e seu impacto no ambiente, diante disso torna-se indispensável a busca por sistemas produtivos intensivos que tenham menor impacto no ambiente. Esta dissertação é composta por resultados obtidos de dois experimentos distintos, sendo que o primeiro teve como objetivo avaliar os parâmetros reprodutivos de *Astyanax lacustris* criados em sistemas de recirculação durante o inverno e submetidos ou não à manipulação ambiental. Observamos que os animais mantidos sob manipulação ambiental (temperatura e fotoperíodo) responderam positivamente, obtendo melhora na quantidade e qualidade dos gametas, possibilitando obter gametas viáveis de *A. lacustris* em período fora do convencional para a espécie. Já o segundo teve como foco a utilização de diferentes sistemas produtivos, entre eles a tecnologia de bioflocos, sistema esse que vem sendo estudado com a finalidade de diminuir o uso de água e descarte de resíduos, com o objetivo de avaliar a viabilidade da manutenção de reprodutores de *A. lacustris* em tecnologia de Bioflocos, tanque escavado e sistema de recirculação de água. A partir dos dados obtidos nesse experimento, observamos que não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para os parâmetros espermáticos avaliados, entretanto, para as fêmeas o sistema BFT apresentou melhores resultados quando comparado aos demais, já que os animais apresentaram melhor desempenho reprodutivo no quesito produção e qualidade de ovos quando comparado ao TANK e ao RAS, sendo assim, verificamos que é possível manter reprodutores de *Astyanax lacustris* em sistema BFT.

**Palavras-chave:** Reprodução, sêmen, *out-of-season*, manipulação ambiental, tecnologia de bioflocos.

## PREFÁCIO

### INTRODUÇÃO GERAL

O lambari pertencente à família Characidae, maior na ordem Characiformes, totalizando 65% das espécies nesta ordem, sendo encontrados na região tropical e em bacias hidrográficas subtropicais (Lima *et al.* 2003). Entre as diversas espécies de lambaris, o lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax lacustris* sinônimo de *A. altiparanae* (Figura 1) (Lucena and Soares *et al.*, 2016) é uma espécie de pequeno porte, de crescimento rápido, apresenta dimorfismo sexual e pode alcançar a maturidade sexual por volta dos quatro meses de idade (Porto-Foresti *et al.*, 2001).



Figura 1. Exemplar de *Astyanax lacustris*. Foto: Janaína S. I. Valandro

A criação de lambari tem sido desenvolvida nas últimas duas décadas como uma fonte alternativa de renda para produtores no Brasil (Valladão *et al.*, 2018). Por ser um peixe de baixo nível trófico, o lambari tem grande potencial para ser produzido de forma sustentável, promovendo o desenvolvimento socioeconômico, melhorando a segurança alimentar e conservando os recursos naturais no Brasil (Fonseca *et al.*, 2017). Além disso, a espécie tem uma grande flexibilidade a diferentes ambientes com respostas positivas, inclusive para a reprodução em diferentes épocas do ano, o que exalta ainda mais o potencial da mesma para a piscicultura (Cassel *et al.*, 2017).

O mercado consumidor do lambari está voltado para diferentes consumidores, sendo utilizado na pesca esportiva como isca-viva (Silva *et al.*, 2011a), na pesca comercial (isca para pesca de atum) (Yasui *et al.*, 2020) e na alimentação humana, pois possui características e sabor que fazem com que ocorra alta aceitabilidade pelos consumidores, se mostrando uma espécie com potencial para o mercado de corte (Silva *et al.*, 2011b). No campo da pesquisa, o lambari tem se tornado cada vez mais como uma espécie-modelo, podendo ser empregada em diversas

áreas, como monitoramento da qualidade da água (Fernandes et al., 2019), reprodução artificial (Yasui et al., 2015), triploidia (Adamov et al., 2017), biologia reprodutiva (Siqueira-Silva et al., 2017), funções de células reprodutivas (Costa et al., 2014) e funções hormonais (Branco et al., 2019).

Apesar da plasticidade reprodutiva (Cassel et al., 2017) a reprodução está sincronizada como a maioria das espécies de peixes, de acordo com o período do ano (estação), afim de garantir condições favoráveis para a sobrevivência da prole (Bromage et al., 2001). Normalmente, a maturação gonadal e desova dos peixes está associado principalmente aos fatores abióticos, entre os quais, podemos destacar o fotoperíodo (Bromage et al., 2001), temperatura (Mylonas et al., 2010) e variações dos níveis da água (pluviosidade) (Cherade et al., 2015).

Na piscicultura o fator decisivo para o sucesso na continuidade do empreendimento é conhecer e dominar os ciclos de vida do animal, dentre eles a reprodução. Para isso, se torna necessário aplicar alternativas para a obtenção de ovos e alevinos fora do período reprodutivo (Mylonas et al., 2010). A combinação do bem-estar do animal, com fotoperíodo, seja ele com luz natural ou luz artificial e temperaturas próximas ao do ambiente natural da espécie, tendem a garantir a maturação gonadal, podendo obter desovas fora da estação reprodutiva em ambiente controlado (Lira et al., 2018; Brambila-Souza et al., 2019a; 2019b; Machado-Evangelista et al., 2019). O objetivo das desovas fora de estação é ter controle sobre o tempo de produção dos peixes, e assim, garantir que o mercado seja abastecido durante todo o ano e permitir a otimização do uso das instalações, evitando que a mesma fique sem uso (Duncan et al., 2013).

Entretanto, para isso, sistemas devem atender as necessidades fisiológicas dos animais e irem de encontro com a demanda de sistemas mais sustentáveis, onde busca-se gerar menores cargas de efluentes no ambiente e diminuir a quantidade de água utilizada, ocasionando em menores danos ambientais, tais como, o sistema de recirculação de água (Edwards, 2015), que além de proporcionar redução da quantidade de água utilizada, melhora a gestão dos resíduos, permitindo maior produtividade por área (Martins et al., 2010).

Além disso, outro sistema que vêm despertando grande interesse é o sistema de criação de peixes em Bioflocos (BFT), sistemas estes que já se mostrou viável para a produção (Lima et al., 2018) e reprodução (Alvarenga et al., 2017) da espécie onívora *Oreochromis niloticus*. Essa técnica se baseia na ciclagem do nitrogênio (N) inorgânico, realizada por micro-organismos (Schryver et al., 2008), tendo como finalidade controlar o acúmulo de amônia ( $\text{NH}_3$   $\text{NH}_4^+$ ) e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), que são tóxicos aos peixes (Avnimelech, 2009) sendo considerado um sistema com troca mínima ou zero de água (Schryver et al., 2008).

A partir destes trabalhos, pode-se verificar que diferentes sistemas produtivos atualmente são empregados nas pisciculturas, principalmente, sistemas que geram menos impacto ambiental, porém o efeito direto da manipulação destes ambientes sobre a reprodução e qualidade dos gametas de peixes do gênero *Astyanax* ainda é limitado, havendo assim a necessidade de complementação dos trabalhos existentes para refinar a técnica de reprodução do mesmo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adamov, N.S.M., Nascimento, N.F., Maciel, E.C.S., Pereira-Santos, M., Senhorini, J.A., Calado, L.L., Machado-Evangelista, M., Nakaghi, L.S.O., Guerrero, A.H.M., Fujimoto, T., Yasui, G.S., 2016. Triploid Induction in the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, Using Temperature Shock: Tools for Conservation and Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(5), 741– 750. <http://dx.doi.org/10.1111/jwas.12390>

Alvarenga, E.R., Sales, S.C.M., Brito, T.S., Santos, C.R., Corrêa, R.D.S., Alves, G.F. de O., Manduca, L.G., Turra, E. M., 2017. Effects of biofloc technology on reproduction and ovarian recrudescence in Nile tilapia. *Aquaculture Research* 48(12), 1-8. <https://doi.org/10.1111/are.13420>

Avnimelech, Y. *Biofloc Technology: a practical guide book*. 3<sup>a</sup>ed. United States: The World Aquaculture Society, 2009.

Brambila-Souza, G., Mylonas, C.C., Mello, P.H., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., Tolussi, C.E., Moreira, R.G., 2019a. Thermal manipulation and GnRHa therapy applied to the reproduction of lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae* females (Characiformes: Characidae) during the non-breeding season. *General and Comparative Endocrinology* 279(1), 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.02.016>

Brambila-Souza, G., Gomes, A.D.O., Honji, R.M., Hilsdorf, W.S., Moreira, R.G., 2019b. Distinctive reproductive tactics between sympatric specimens of *Astyanax aff. fasciatus* in the wild and in captivity. *Environmental Biology of Fishes* 102, 1179–1191. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00898-z>

Branco, G.S., Melo, A.G., Ricci, J.M.B., Digmayer, M., Jesus, L.W.O., Habibi, H.R., Nóbrega, R.H., 2019. Effects of GnRH and the dual regulatory actions of GnIH in the pituitary explants and brain slices of *Astyanax altiparanae* males. *General and Comparative Endocrinology* 273(1), 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.08.006>

Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special references to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197(1), 63–98. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00583-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00583-X)

Cassel, M., Chehade, C., Branco, G.S., Caneppele, D., Romagosa, E., Borella, M.I., 2017. Ovarian development and the reproductive profile of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) over one year: Applications in fish farming. *Theriogenology* 98, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.044>

Chehade C., Cassel M., Borella M.I., 2015. Induced reproduction in a migratory teleost species by water level drawdown. *Neotropical Ichthyology* 13(1), 205-212. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140028>

Costa, F., Adolphi, 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 semicystic spermatogenesis. *Micron* 61, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2014.02.004>

Duncan, N.J., Sonesson, A.K., Chavanne, H., 2013. Principles of finfish broodstock management in aquaculture: control of reproduction and genetic improvement. In: Allan, G. & Burnell, G. (Eds.). *Advances in aquaculture hatchery technology*. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 23-75.

Edwards, P., 2015. Aquaculture environment interactions: past, present and likely future trends. *Aquaculture* 447(1), 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.001>

Fernandes, K., Gomes, A., Calado, L., Yasui, G., Assis, D., Henry, T., Fonseca, A., Pinto, E., 2019. Toxicity of Cyanopeptides from Two *Microcystis* Strains on Larval Development of *Astyanax altiparanae*. *Toxins* 11(4): 220. <https://doi.org/10.3390/toxins11040220>

Fonseca, T., Costa-Pierce, B.A., Valenti, W.C., 2017. Lambari Aquaculture as a Means for the Sustainable Development of Rural Communities in Brazil. *Reviews in fisheries science & aquaculture* 25(4), 316–330. <https://doi.org/10.1080/23308249.2017.1320647>

Lima, E.C.R., Souza, R.L., Girao, P.J.M., Braga, I.F.M., Correia, E. DE S., 2018. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of carbon. *Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. Revista Ciência Agronômica* 49(3), 458-466. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180052>

Lima, F.C.T., Malabarba, L.R., Buckup, P.A., Pezzi da Silva, J.F., Vari, R., Harold, P. A. 2003. Genera incertae sedisin Characidae. In *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America* (eds. R.E. Reis, S.O. Kullander & C.J. Ferraris Jr), pp. 106–68. Porto Alegre: Edipucrs.

Lira, L.G.V., Kuradomi, R.Y., Souza, T.G., hainfellner, P., Batlouni, S.R., 2018. *Astyanax altiparanae* Ovarian maturation after spawning in water recycling systems. Boletim do Instituto de Pesca 44(4): 207. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2018.44.4.207>

Lucena, C.A.S.D., Soares, H.G., 2016. Review of species of the *Astyanax bimaculatus* “caudal peduncle spot” subgroup sensu Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio La Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. *Zootaxa* 4072(1), 101–125. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4072.1.5>

Machado-Evangelista, M., Sussel, F.R., Romagosa, E., 2019. Environmental manipulation on *Astyanax altiparanae* out-of-season spawning. Latin American Journal of Aquatic Research 47(2), 292-302. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-9>

Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C.J., Heinsbroek, L.T.N., Schneider, O., Blancheton, J.P., Roque d’Orbcastel, E., Verreth, J.A.J., 2010. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquacultural Engineering* 43(3), 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2010.09.002>

Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanui, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165(3), 516 - 534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>

Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Forest, F., Castilho-Almeida, R.B., 2001. Cultivo do Lambari: Uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. *Panorama da Aquicultura* 11, 15-19.

Schryver, P.R., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277(3-4), 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>

Silva, N.J.R., Lopes, M.C., Fernandes, J.B.K., Henriques, M.B., 2011a. Caracterização dos sistemas de criação e da cadeia produtiva do lambari no estado de São Paulo, Brasil. *Informações Econômicas* 41, 17–28.

Silva, N.J.R., Lopes, M.C., Gonçalves, F.H.A.S., Gonsales, G.Z., Henriques, M.B., 2011b. Avaliação do potencial do mercado consumidor de lambari da baixada santista. *Informações Econômicas* 41, 5–17.

Siqueira-Silva, D.H., Santos- Silva, A.P., Bashiyo-Silva, C., Rodrigues, M.S., Vicentini, C.A., Ninhaus-Silveira, A., Veríssimo-Silveira, R., 2017. Testicular Structure and Seminal Pathway in the Yellowtail Tetra *Astyanax altiparanae* (Characiforms: Characidae). *Anatomia, Histologia, Embryologia* 46(4), 342-346. <https://doi.org/10.1111/ah.12275>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2016. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 10(2), 351-369. [https://doi.org/ 10.1111/raq.12164](https://doi.org/10.1111/raq.12164)

Yasui, G.S., Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A., Nascimento, N.F., Foresti, F. Biologia e criação do Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Baldisserotto, B. (Org.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 3.ed., rev., atual. e ampl. – Santa Maria: Ed. UFMS, 2020. pp. 113-126.

Yasui, G.S., Senhorini, J.A., Shimoda, E., Pereira-Santos, M., Nakaghi, L.S.O., Fujimoto, T., Arias-Rodrigues, L., Silva, L.A., 2015. Improvement of gamete quality and its short-term storage: An approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*. 9(3), 464-470. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002511>

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficiência reprodutiva de machos e fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) criados em diferentes sistemas produtivos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

### **CAPITULO I**

- Avaliar a eficiência reprodutiva de machos e fêmeas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) criados em sistemas de recirculação durante o inverno e submetidos ou não à manipulação ambiental.
- Avaliar a capacidade reprodutiva de *A. lacustris* submetidos a desovas artificiais e seminaturais após manipulação ambiental durante o inverno em sistemas de recirculação.
- Avaliar os parâmetros espermáticos de *A. lacustris* utilizando o software ImageJ/plugin CASA de machos criados em sistema de recirculação de água submetido à manipulação ambiental.

### **CAPITULO II**

- Avaliar a capacidade reprodutiva de fêmeas de *A. lacustris* criadas em sistemas convencionais e bioflocos.
- Avaliar os parâmetros espermáticos de *A. lacustris* criados em sistemas convencionais e bioflocos.

## CAPÍTULO I – ARTIGO

### **Avaliação dos parâmetros reprodutivos de Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) em sistema de recirculação com fotoperíodo e temperatura manipulados durante o inverno\***

#### **RESUMO**

Sabe-se que as mudanças sazonais estimulam ou inibem a gametogênese dependendo da espécie. Assim, para períodos entre safra, onde a obtenção de gametas é restrita ou nula, a manipulação do fotoperíodo, juntamente com a temperatura pode ser utilizada na aquicultura com o intuito de induzir a maturação fora da estação reprodutiva. Diante disso, objetivou-se avaliar os parâmetros reprodutivos de *A. lacustris* mantidos em ambiente controlado (temperatura e fotoperíodo) durante o período de inverno em sistemas de recirculação de água. Para tal, foram utilizados dois sistemas de recirculação (10m<sup>3</sup>) distintos, sendo um com manipulação de temperatura e fotoperíodo simulando primavera com 26,2±1,63°C e 13 horas de luz (G1) e o outro exposto as condições climáticas naturais com 18,32±1,46°C e fotoperíodo natural (10h:46min de luz) (G2). Cada sistema contou com três hapas, que foram analisadas em diferentes tempos (30, 45 ou 60 dias) após o início de estocagem dos peixes. Para os parâmetros avaliados para fêmeas foi observado diferença entre os tratamentos (p<0,05), onde observamos que para os tratamentos G1-30 e G1-45 apresentaram os maiores valores em relação a fecundidade absoluta e relativa. Para os parâmetros espermáticos, observamos que em 10 segundos pós-ativação, não houve diferença (p>0,05) entre os tratamentos para os parâmetros de velocidade (VCL, VAP e VSL). Para taxa de motilidade avaliada no mesmo tempo, é visto que os tratamentos G1-30 e G1-45 apresentaram os maiores valores (p<0,05) em relação aos demais tratamentos. Já na avaliação espermática em 30 segundos foi observada diferença significativa (p<0,05) para os parâmetros de velocidade e motilidade espermática, onde os tratamentos G1-30 e G1-45 apresentaram maiores valores. Diante dos resultados verificamos que os animais mantidos sob controle ambiental apresentaram melhor desempenho reprodutivo. Assim, observamos que é possível obter gametas viáveis de *A. lacustris* utilizando manipulação de temperatura e fotoperíodo período de inverno.

**Palavras-chave:** Reprodução, sêmen, *out-of-season*, manipulação ambiental.

---

\* Artigo escrito sob as normas da Revista Aquaculture.

## 1. INTRODUÇÃO

Peixe mantidos em cativeiro, principalmente espécies migratórias, apresentam dificuldades em completar o ciclo reprodutivo, que está ligado a fatores fisiológicos e/ou ambientais. Dentre essas dificuldades podemos destacar principalmente problemas nas fases de maturação oocitária e desova (Agostinho et al., 2007). Para conseguir se obter desovas dessas espécies, é necessária a utilização de agentes externos, o mais comum dentre eles, a utilização de hormônios exógenos (Mylonas et al., 2010). Entretanto essa prática é quase sempre efetiva somente no período reprodutivo, que ocorre durante o período de primavera/verão (Jesus et al., 2017; Caneppele et al., 2009).

A reprodução dos peixes é desencadeada por diversas mudanças fisiológicas, quase sempre devido a estímulos ambientais exógenos, como fotoperíodo (Pankhurst and Porter, 2003; Bromage et al., 2001), temperatura (Yu et al., 2018; Shahjahan et al., 2017, 2013; Mylonas et al., 2010; Boeuf and Falcon, 2001), pluviosidade (Cherade et al., 2015), bem como, disponibilidade de alimento (Bailly et al., 2008). Estas variáveis atuam como um indicador de condições favoráveis para que ocorra a reprodução, afim de garantir maior sobrevivência da prole (Bromage et al., 2001).

Segundo Falcon et al. (2010; 2007), as mudanças sazonais vão estimular ou inibir a gametogênese dependendo da espécie. Esses fatores, juntamente ligados as características fisiológicas da espécie (Bailly et al., 2008), estimulam o desenvolvimento dos fatores endógenos, ou seja, a produção de hormônios ligados a reprodução. A revisão realizada por Alix et al. (2020), mostra que essas mudanças atuam diretamente no eixo hipotálamo-hipófise-gônada (HPG) que é responsável pela liberação do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH), hormônio inibidor de gonadotropina (GnIH) e dopamina (Zhu et al., 2014; Miranda et al., 2013; Walther et al., 2002).

A luz é um fator ambiental que pode fornecer diversas características informativas, como a qualidade (comprimento de onda), quantidade (intensidade) e periodicidade (fotoperíodo), que possuem profundo efeito nas funções fisiológicas dos peixes (Veras et al., 2013). O fotoperíodo é extremamente importante para a maturidade sexual de espécies que sincronizam suas atividades reprodutivas de acordo com a sazonalidade (Shahjahan et al., 2020; Elísio et al., 2015, 2014; Zhu et al., 2014). A temperatura também exerce um papel importante, tendo em vista que os peixes, por se tratarem de animais ectotérmicos, principalmente os encontrados em regiões quentes, tropicais e/ou subtropicais, são geralmente mais ativos quando as temperaturas estão mais altas e dentro do limite de conforto térmico da espécie. Além disso, temperaturas da água adequadas podem influenciar e acelerar a maturação gonadal (Olden and

Naiman, 2010). A manipulação do fotoperíodo, juntamente com a temperatura vem sendo utilizada na aquicultura com o intuito de induzir a maturação fora da estação reprodutiva (Brambila-Souza et al., 2019a; 2019b; Machado-Evangelista et al., 2019; Lira et al., 2018), afim de controlar as desovas e conseguir abastecer o mercado durante todo o ano (Duncan et al., 2013).

O lambari pertencente à família Characidae, é a maior na ordem Characiformes, totalizando 65% das espécies nesta ordem (Lima *et al.* 2003). Dentro da família Characidae, encontra-se o gênero *Astyanax*, um grupo extensamente distribuído na América do Sul, que possui cerca de uma centena de espécies (Garutti and Britski, 2000). Entre as diversas espécies de lambaris, o lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax lacustris* sinônimo de *A. altiparanae* (Lucena and Soares, 2016) é uma espécie amplamente distribuída na Bacia do Alto Rio Paraná (Langeani et al., 2007), é um animal de pequeno porte, de crescimento rápido, apresenta dimorfismo sexual e pode alcançar a maturidade sexual por volta dos quatro meses de idade (Porto-Foresti et al., 2001). O lambari é um peixe que apresenta desova múltipla (Sato et al., 2006), com picos de reprodução nos meses mais quentes, primavera e verão (Cassel et al., 2017; Jesus et al., 2017; Prado et al., 2011)

Conhecido por ser uma espécie de baixo nível trófico, o lambari tem grande potencial para ser produzido de forma sustentável (Fonseca et al., 2017). O mercado consumidor do lambari é amplo, e podemos destacar sua utilização principalmente na pesca esportiva como isca-viva (Silva et al., 2011a), na pesca comercial (isca para pesca de atum) (Yasui et al., 2020) e na alimentação humana, tendo em vista a apreciação e aceitabilidade da carne pelos consumidores (Silva et al., 2011b). Entretanto sua utilização não se compreende somente a comercialização, o lambari tem sido utilizado na área de pesquisa como uma espécie-modelo, podendo ser empregada em diversas áreas, como monitoramento da qualidade da água (Fernandes et al., 2019), reprodução artificial (Yasui et al., 2015), triploidia (Adamov et al., 2017), biologia reprodutiva (Siqueira-Silva et al., 2017), funções de células reprodutivas (Costa et al., 2014) e funções hormonais (Branco et al., 2019).

Neste sentido, tendo em vista suas características e potencial produtivo utilizou-se o *A. lacustris* como modelo dessa pesquisa ao qual teve como objetivo avaliar os parâmetros reprodutivos desta espécie criada em sistemas de recirculação durante o inverno e submetidos ou não à manipulação ambiental.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *A. lacustris* foram provenientes de um plantel pertencente ao setor de piscicultura da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Regional do Vale do Ribeira, Pariquera-Açú, São Paulo, Brasil. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR) da Unesp, Registro, São Paulo, Brasil.

### 2.1. Delineamento experimental

Para realização do experimento foram utilizados dois sistemas. Cada sistema contou com três hapas, sendo que cada uma delas foi analisada em um tempo de criação (fator tempo de 30, 45 ou 60 dias), assim foram considerados como repetições os animais. Cada hapa contia uma proporção de 1,5:1 (macho:fêmea), sendo ao total 90 machos (7,19±1,53 g e 8,95±0,47 cm) e 60 fêmeas (12,99±2,8 g e 10,29±0,63 cm) por hapa.

Os sistemas utilizados foram dois tanques experimentais (Figura 1), sendo eles: G1 - um tanque experimental de 10 m<sup>3</sup>, com sistema de recirculação individual, composto por filtro mecânico e biológico (Bioballs), com aeração constante e controle de horas de luz (13h/dia - 05:20 às 18:20 horas, com 15 minutos de crepúsculo civil, durante a manhã e durante a noite) e elevação da temperatura (26,2±1,63 °C), afim de alcançar condições semelhantes às encontradas durante a primavera/verão. A luz foi fornecida por lâmpadas fluorescentes controladas por temporizadores, sendo elas 2 lâmpadas de 1800 lumens e 2 lâmpadas de 810 lumens (utilizadas para simulação do crepúsculo civil). A temperatura da água foi controlada com o uso de uma resistência elétrica de cobre de 2000W e com intuito de evitar perda de calor, uma casa de vegetação/estufa foi montada entorno de todo o sistema. G2 - um tanque experimental de 10 m<sup>3</sup>, provido de sistema de recirculação individual, sendo composto por filtro mecânico e biológico (Bioballs), com aeração constante, exposto as condições naturais da estação (Outono/inverno), onde o fotoperíodo natural foi das 06:42 às 17:28 horas, com temperatura média de 18,32 ±1,46°C ao longo do experimento.

Os animais foram alimentados com ração comercial (36% de PB, 2,6mm), até a saciedade aparente. A alimentação foi pesada diariamente para aferir a quantidade consumida por cada tratamento. As avaliações reprodutivas dos animais foram realizadas após 30, 45 e 60 dias de criação para todos os sistemas propostos. Assim que os tratamentos atingiram 30, 45 ou 60 dias, foi feita a retirada completa de uma hapa de cada tratamento, e os animais foram transportados até o laboratório para realização da coleta dos dados reprodutivos. Os animais de cada hapa foram divididos em dois dias de coleta de dados, sendo 28 fêmeas e 43 machos por

dia. Cada dia de coleta contou com dois sistemas de desova seminatural (caixa plástica de 20 litros) por tratamento, onde foi alocado a proporção de 1:1,5 (fêmea:macho), sendo 5F:8M, por caixa. Para extrusão e fertilização a seco foram utilizados 18F:27M de cada tratamento para cada dia.

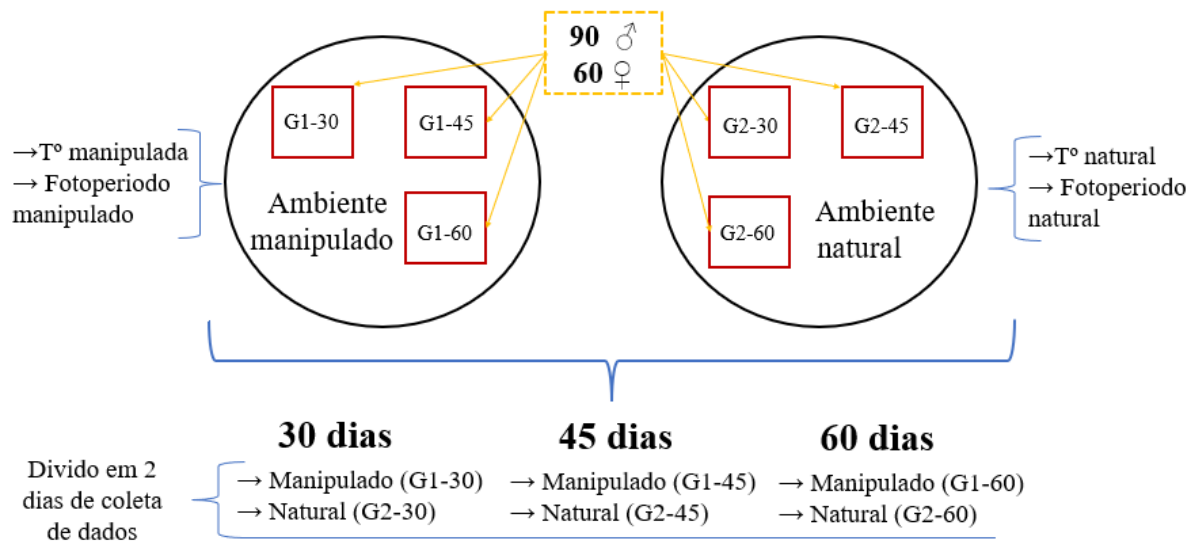


Figura 1 Croqui do delineamento experimental durante o inverno. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias;

### 2.2. Indução hormonal

Todos os animais foram submetidos a indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC). Para o preparo da solução do EBHC, as hipófises foram diluídas em soro fisiológico (2 mL/Kg). As fêmeas selecionadas receberam duas dosagens hormonais de forma intramuscular na base da nadadeira peitoral. A primeira dose preparatória de 0,5 mg de EBHC/Kg de peso vivo e, após doze horas, a dosagem final de 5,0 mg EBHC/Kg de peso vivo (Abreu et al., 2021). Os machos selecionados receberam uma única dose hormonal de 2,5 mg de EBHC/kg, que ocorreu duas horas antes da segunda dosagem das fêmeas, fazendo com que a coleta dos gametas masculinos ocorresse antes dos ovócitos, com o objetivo de minimizar a perda da viabilidade dos ovócitos após a coleta (Sanches et al., 2011).

### 2.3. Extrusão

Após 180 horas-grau, foi realizada a extrusão dos machos e fêmeas, onde realizou-se a coleta dos gametas masculinos separadamente, o mesmo ocorreu para os oócitos de cada fêmea, e para isso, os animais foram sedados com imersão em água contendo eugenol (50mg/L).

### 2.3.1. Fêmeas

As fêmeas foram extrusadas mediante a pressão abdominal, realizada por massagem no sentido céfalo-caudal. Após a coleta foi realizado a pesagem ( $\pm 0,01$ g) individual dos oócitos e em seguida fixou-se (formol 10%) 0,1g para posteriores cálculos de produtividade por fêmea. Uma segunda amostra de 0,1g foi pesada para proceder a fertilização artificial, realizada por meio de um pool de sêmen oriundo de machos do mesmo tratamento utilizando uma quantidade fixa de sêmen para todas (20 $\mu$ L) (Pereira-Santos et al., 2017). Após a fertilização e hidratação dos ovos com 5 ml de água do sistema, eles foram transferidos para incubadoras individuais (peneiras plásticas com telas de 0,5mm de espessura). Os percentuais de ovos fertilizados foram contabilizados após o fechamento do blastóporo, onde todos os ovos contidos na incubadora foram classificados. Nessa avaliação, foram considerados ovos gorados aqueles que apresentaram colocação esbranquiçada e quanto aos ovos viáveis, aqueles que apresentaram colocação translúcida. Após a eclosão das larvas, foram contabilizadas o número de larvas normais e larvas defeituosas.

### 2.3.2. Machos

Para a coleta do sêmen, os machos foram sedados por imersão em eugenol a 50 mg/L e em seguida a papila urogenital e a superfície dos animais foram limpas e enxugadas com papel toalha. Posteriormente foram realizadas massagens manuais delicadas sobre a região abdominal no sentido encéfalo-caudal. O sêmen foi coletado com o auxílio de uma pipeta volumétrica (0,5 a 10  $\mu$ l), e acondicionado em um eppendorf (1,5 ml) contendo 20  $\mu$ l de solução salina balanceada de Hank's (INLAB LTDA) na concentração de 9,5 g.L<sup>-1</sup> (diluidor), afim de evitar possíveis contaminações com urina e água conforme metodologia adaptada de Yasui et al. (2015). Considerando-se que o sêmen perde qualidade se estocado *in natura* em longo prazo, o mesmo foi coletado e estocado em caixas de isopor contendo gelo e em seguida manipulados (Sanches et al., 2013).

Os parâmetros espermáticos foram avaliados pelo método computadorizado, utilizando um software de código aberto (Wilson-Leedy and Ingermann, 2007). Para realização desse método o sêmen foi ativado utilizando água destilada, e os vídeos foram gravados com auxílio de uma câmera Basler acA640-120gc (<http://www.baslerweb.com>). Para tal, o sêmen ativado era levado rapidamente a um microscópio de luz trinocular (SolaristBel) em objetiva 10x, conectado ao computador (CPU Intel (R) Core (TM) i5-10210U @ 1,60 GHz, 2,11 GHz, 8 GB de Ram) com sistema operacional Microsoft Windows 11 ©. As análises foram realizadas de acordo com o procedimento recomendado por Sanches et al. (2010; 2013), em 10s e 30s pós

ativação em 1s de vídeo (100 frames) por meio do software livre ImageJ/plugin CASA. Os parâmetros avaliados foram: percentual de motilidade espermática (MOT), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média de deslocamento (VAP), velocidade em linha reta (VSL), retilinearidade (STR), oscilação (WOB), progressão (PROG) e frequência do batimento transversal (BCF). As configurações utilizadas no programa para avaliação foram adaptadas de Sanches et al. (2013) e Pinheiro et al. (2022), sendo elas: a=1, b=60, c=50, d=8, e=1, f=6, g=15, h=15, i=1, j=25, k=15, l=25, m=80, n=80, o=50, p=60, q=100, r=561,7978, s=0, t=0, u=0.

Para mensuração da concentração espermática foram utilizadas 1  $\mu\text{L}$  do sêmen diluído em 2.000  $\mu\text{L}$  de formol salino tamponado. A concentração espermática foi estimada com base na contagem de células em câmara hematómica de Neubauer conforme Mylonas et al. (1997) e Sanches et al. (2011). A análise de integridade da membrana dos espermatozoides foi realizada pelo método de coloração eosina-nigrosina, utilizando-se 1 $\mu\text{L}$  de sêmen, 5 $\mu\text{L}$  de eosina amarela (3%) e 5 $\mu\text{L}$  de nigrosina (5%). Após o processamento das lâminas, três áreas com 200 espermatozoides foram analisadas em microscópio de luz (obj. 60 $\times$ ) (Sanches et al., 2009), sendo considerados mortos os espermatozoides corados e vivos os incolores.

#### *2.4.Desova seminatural*

Os animais do grupo semi-natural, foram alocados em caixas plásticas de 30 litros na proporção de 1:1,6 (femêa:macho), sendo oito machos e cinco fêmeas por caixa. A hapa de cada tratamento contou com quatro repetições. A caixa contou com uma tela de proteção para separar os reprodutores dos ovos, afim de evitar a predação do mesmo. Após a fertilização dos ovos, os mesmos foram coletados para realizar a medição do volume de ovos. Os ovos foram alocados separadamente em incubadoras cônicas até a eclosão.

#### *2.5.Análise Estatística*

Todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância fatorial de efeitos principais (Factorial ANOVA) a 5% de significância, considerando os diferentes sistemas como o fator 1 e os diferentes hapas (tempos) como fator 2. Em caso de efeito significativo, foi aplicada a análise de comparação de médias de Duncan ao mesmo nível. Os pressupostos de homogeneidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias foram checados. Em caso de dados não paramétricos, foi realizado teste de comparação de Kruskal-Wallis.

### 3. RESULTADOS

Foram realizadas avaliações diárias de temperatura (Figura 2) durante todo o período experimental. O sistema com controle ambiental apresentou médias de temperatura entre  $26,2 \pm 1,63$  °C e o sistema de recirculação convencional apresentou uma média de  $18,32 \pm 1,46$  °C.

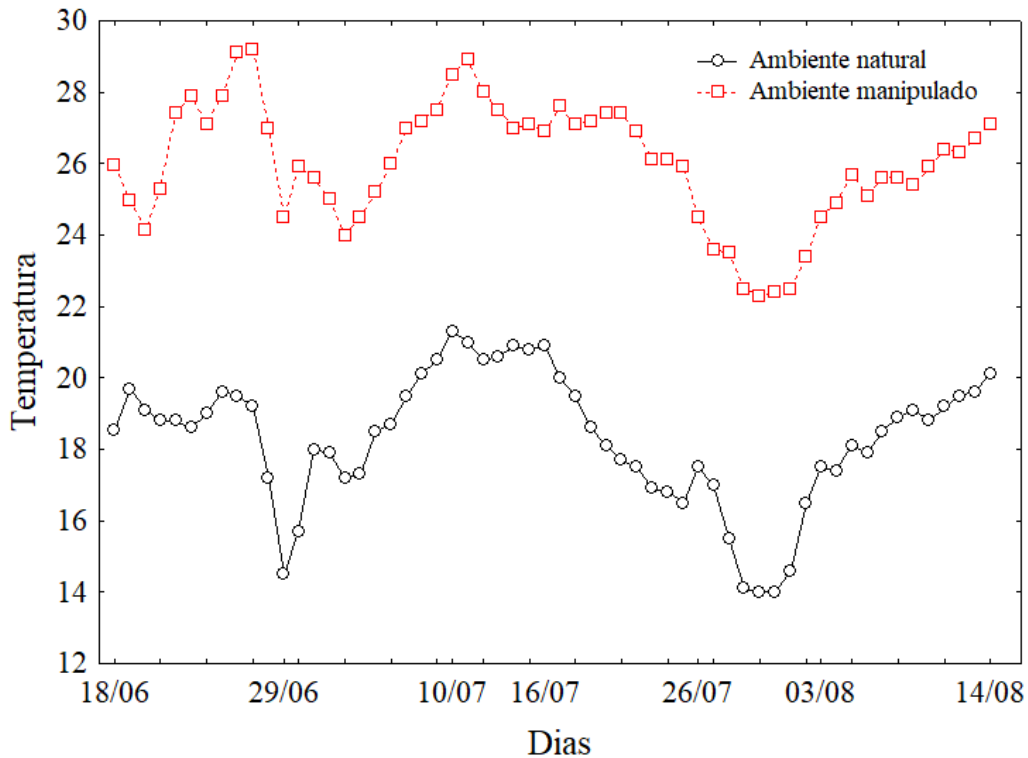


Figura 2. Variação de temperatura ao decorrer do experimento no ambiente manipulado e no ambiente natural durante o inverno.

Para o ambiente manipulado (G1) foi observada uma temperatura máxima de 29,2 °C e mínima de 22,3 °C e para o ambiente natural (G2) obtivemos máxima de 21,3 °C e mínima de 14,0 °C. Pode-se observar (Figura 2) que nos dias 29/06 e 03/08, foram registradas as temperaturas mais baixas durante o decorrer do experimento, e nos dias 10/07 e 14/08 os picos mais altos de temperatura foram registrados. Considerando que a primeira coleta de dados ocorreu 30 dias após o início do experimento, podemos observar que os tratamentos G1-30 e G2-30 foram expostos a temperaturas mais altas até o momento da desova que ocorreu no dia 17/07. Já os tratamentos G1-45 e G2-45, foram os tratamentos mais expostos a baixa temperatura dias antes de ocorrer o processo de desova (02/08). Após a coleta da segunda parcela, a temperatura retorna a aumentar no momento da desova dos tratamentos G1-60 e G2-60.

Os parâmetros de qualidade da água de ambos os sistemas (Tabela 1) permaneceram dentro do recomendado pela literatura para a criação de peixes (Garutti, 2003a; Garutti, 2003b; Porto-FORESTI *et al.*, 2010). Os parâmetros de qualidade medidos durante o período de desova também permaneceram dentro da normalidade (Tabelas 1).

Tabela 1 Qualidade de água (média  $\pm$  desvio padrão) ao longo do período experimental

Sistemas	O.D (mg/l)	C.E (uS/cm <sup>2</sup> )	pH	NH <sub>3</sub> N (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
<b>G1</b>	7,07 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	159,6 $\pm$ 1,41 <sup>a</sup>	7,43 $\pm$ 0,11	0	1,6 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>
<b>G2</b>	8,54 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	135,6 $\pm$ 4,38 <sup>b</sup>	7,36 $\pm$ 0,10	0	3,8 $\pm$ 1,64 <sup>b</sup>
<b>t-valor</b>	T <sub>(2, n=7)</sub> = 7,07 p<0,05	T <sub>(2, n=7)</sub> = -14,78 p<0,05	T <sub>(2, n=7)</sub> = -1,45 p>0,05	-	T <sub>(2, n=7)</sub> = 2,84 P<0,05

Letras diferentes nas barras indicam diferença (p<0,05) de acordo com o teste t. O.D: Oxigênio dissolvido; C.E: Condutividade elétrica; pH: Potencial hidrogeniônico; NH<sub>3</sub>N: Amônia; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: Nitrito. G1: ambiente manipulado; G2: ambiente natural

Para consumo de ração diária, foi observada diferença significativa entre os sistemas (p<0,05). O consumo diário para G1 foi maior quando comparado ao G2. Pode-se observar que ao decorrer do experimento, os animais mantidos no sistema G1 passaram a consumir uma quantidade média diária em 30, 45 e 60 dias (12,11  $\pm$  6,69 > 11,37  $\pm$  8,08 > 9,13  $\pm$  6,84 g). Já no sistema G2 é observado um consumo de ração médio ao decorrer dos dias de 0,82  $\pm$  6,69 < 1,21  $\pm$  8,08 < 1,34  $\pm$  6,84 g. Em relação aos parâmetros zootécnicos, observamos que o ganho de peso foi maior para os tratamentos G1. Para conversão alimentar aparente (CAA) e sobrevivência não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Consumo de ração e parâmetros zootécnicos (média  $\pm$  desvio padrão) de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.

Tratamentos	CRT (g)	CRD (g)	GP (g)	CAA	SOB (%)
<b>G1-30</b>	326,9	12,11 $\pm$ 6,69 <sup>a</sup>			
<b>G1-45</b>	511,7	11,37 $\pm$ 8,08 <sup>a</sup>	1,36 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	4,05 $\pm$ 2,54	93,56 $\pm$ 3,29
<b>G1-60</b>	548,0	9,13 $\pm$ 6,84 <sup>a</sup>			
<b>G2-30</b>	22,2	0,82 $\pm$ 6,69 <sup>b</sup>			
<b>G2-45</b>	54,5	1,21 $\pm$ 8,08 <sup>b</sup>	0,42 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	2,35 $\pm$ 2,99	92,67 $\pm$ 2,40
<b>G2-60</b>	80,4	1,34 $\pm$ 6,84 <sup>b</sup>			
<b>p-valor</b>	-	H <sub>(5, N=264)</sub> =112,59 p<0,05	T <sub>(2, N=6)</sub> =2,87 p<0,05	T <sub>(2, N=6)</sub> =0,74 p>0,05	T <sub>(2, N=6)</sub> =0,38 p>0,05

Letras diferentes nas barras indicam diferença ( $p<0,05$ ) de acordo com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ou teste t. CRT: consumo de ração total (g); CRD: consumo de ração diário (g); GP: ganho de peso (g); CAA: conversão alimentar aparente; SOB(%): Sobrevivência (%). Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para os parâmetros reprodutivos das fêmeas, observou-se diferença significativa ( $p<0,05$ ) para peso dos ovócitos, fecundidade absoluta e relativa para os grupos e tempo de coleta, com comportamento semelhante entre eles aos quais o ambiente em que houve a manipulação ambiental os maiores valores foram verificados (Figura 3A, B e C). Diferente disso, para o diâmetro dos ovos, não se verificou um padrão de comportamento dos resultados, porém em 30 dias o grupo que não foi mantido em situação manipulada, apresentou maiores diâmetros (Figura 3D)

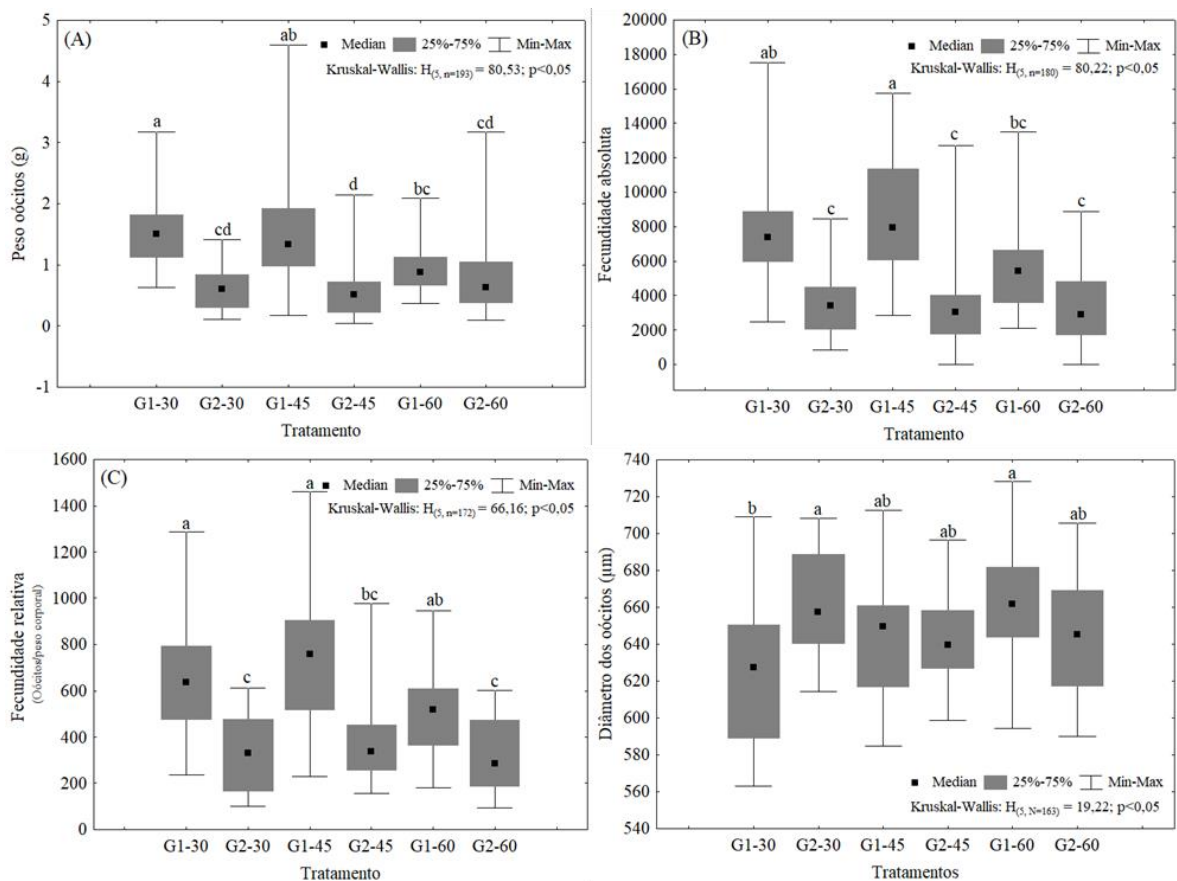


Figura 3. Dados produtivos de oócitos de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) peso oócitos/fêmea (g); (B) Fecundidade absoluta; (C) Fecundidade relativa (oócitos/grama de fêmea); (D) Diâmetro dos oócitos ( $\mu\text{m}$ ). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para o parâmetro de integridade da membrana não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos de acordo com teste de Duncan (Tabela 3). Para a análise concentração espermática foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, onde não foi observada diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Integridade da membrana (média±desvio padrão) e concentração espermática (média±desvio padrão (mediana)) de machos de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.

<b>Tratamentos</b>	<b>Integridade da membrana</b>	<b>Concentração espermática (<math>\times 10^9</math> espermatozoides/ml)</b>
<b>G1-30</b>	97,92 $\pm$ 1,10	13,7 $\pm$ 6,34 (14,0)
<b>G1-45</b>	96,27 $\pm$ 3,93	15,4 $\pm$ 6,79 (15,0)
<b>G1-60</b>	93,57 $\pm$ 4,63	15,1 $\pm$ 6,27 (11,0)
<b>G2-30</b>	97,55 $\pm$ 1,53	16,1 $\pm$ 7,87(8,0)
<b>G2-45</b>	96,70 $\pm$ 2,04	12,8 $\pm$ 2,82 (5,0)
<b>G2-60</b>	94,24 $\pm$ 7,62	11,3 $\pm$ 3,60 (7,0)
<b>p-valor</b>	$F_{(2, n=236)} = 0,31; p>0,05$	$H_{(5, n=118)} = 4,68; p>0,05$

( $P>0,05$ ) demonstra que não houve diferença significativa de acordo com o teste de comparação de médias de Duncan ou com o teste de comparação de Kruscal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para a avaliação realizada 10 segundos pós ativação não foi observada diferença significativa para os parâmetros de velocidade (VCL, VAP e VSL) (Tabela 4). Os parâmetros WOB e PROG também não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

Para o parâmetro BCF, foi observado que os tratamentos G2-30, G2-45, G2-60 e G1-60 não diferiram entre si ( $p<0,05$ ), entretanto eles foram diferentes quando comparados aos tratamentos G1-30 e G1-45, que apresentaram menores valores de BCF (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros espermáticos (média  $\pm$  desvio padrão) em 10 segundos pós ativação de machos de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.

Sistemas	VCL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VAP ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VSL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	WOB (%)	PROG ( $\mu\text{m}$ )	BCF (Hz)
<b>G1-30</b>	61,67 $\pm$ 4,27	39,92 $\pm$ 4,69	38,19 $\pm$ 4,53	64,40 $\pm$ 5,18	1374,20 $\pm$ 160,80	50,16 $\pm$ 2,57 <sup>b</sup>
<b>G1-45</b>	61,36 $\pm$ 3,47	37,98 $\pm$ 3,84	36,42 $\pm$ 3,85	61,87 $\pm$ 4,48	1321,80 $\pm$ 153,38	49,47 $\pm$ 2,45 <sup>b</sup>
<b>G1-60</b>	60,36 $\pm$ 4,19	38,36 $\pm$ 3,89	36,77 $\pm$ 3,70	63,52 $\pm$ 4,03	1304,09 $\pm$ 132,04	51,58 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>
<b>G2-30</b>	62,30 $\pm$ 4,39	40,21 $\pm$ 5,00	38,79 $\pm$ 4,70	65,38 $\pm$ 4,39	1377,46 $\pm$ 171,33	51,61 $\pm$ 2,80 <sup>a</sup>
<b>G2-45</b>	58,60 $\pm$ 3,84	36,92 $\pm$ 4,17	35,46 $\pm$ 3,98	62,41 $\pm$ 3,53	1288,67 $\pm$ 123,01	51,58 $\pm$ 2,56 <sup>a</sup>
<b>G2-60</b>	59,93 $\pm$ 4,58	38,04 $\pm$ 4,12	36,63 $\pm$ 3,00	63,83 $\pm$ 4,40	1294,97 $\pm$ 169,30	51,66 $\pm$ 2,15 <sup>a</sup>
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, n=233)</sub> = 2,90; p>0,05	F <sub>(2, n=236)</sub> = 0,48 p>0,05	F <sub>(2, n=236)</sub> = 0,63 p>0,05	F <sub>(2, n=231)</sub> = 0,12 p>0,05	F <sub>(2, n=236)</sub> = 0,25 p>0,05	F <sub>(2, n=236)</sub> = 3,58 p<0,05

Letras diferentes nas barras indicam diferença (P<0,05) de acordo com o teste de comparação de médias de Duncan. G1 - ambiente manipulado; G2: ambiente natural; VCL: Velocidade curvilínea; VAP: Velocidade média da trajetória; VSL: Velocidade em linha reta; WOB: Oscilação; PROG: Progressão; BCF: Frequência do batimento transversal. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para retilinearidade (Figura 4A ) foi observado que os tratamento G2-30, G2-45 e G2-60 não diferiram entre si ( $p>0,05$ ), apresentando média de  $96,5\pm 1,17\%$ ,  $96,11\pm 1,38\%$  e  $96,28\pm 0,86\%$ , respectivamente. Os tratamentos G1-30 e G1-45 e G1-60 com valores de  $95,66\pm 1,11\%$ ,  $95,83\pm 1,21\%$  e  $95,85\pm 1,0\%$ , respectivamente não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si e o tratamento G2-60.

Em relação a motilidade (Figura 4B), observamos que os tratamentos G1-30 e G1-45 obtiveram os maiores valores ( $78,26\pm 10,85\%$  e  $74,75\pm 16,62\%$ , respectivamente) quando comparados aos demais. O tratamento G2-30 ( $64,93\pm 16,62\%$ ) foi semelhante ( $p>0,05$ ) quando comparado aos tratamentos G1-45 e G2-45 ( $50,84\pm 21,46\%$ ). Os tratamentos G1-60 e G2-60 não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si e apresentaram os menores valores ( $55,57\pm 17,69\%$  e  $47,18\pm 21,43\%$ ) quando comparados aos demais tratamentos. A partir do gráfico, podemos observar que ao decorrer do experimento, o percentual de motilidade caiu gradualmente até o dia 60, onde foram observados os menores resultados.

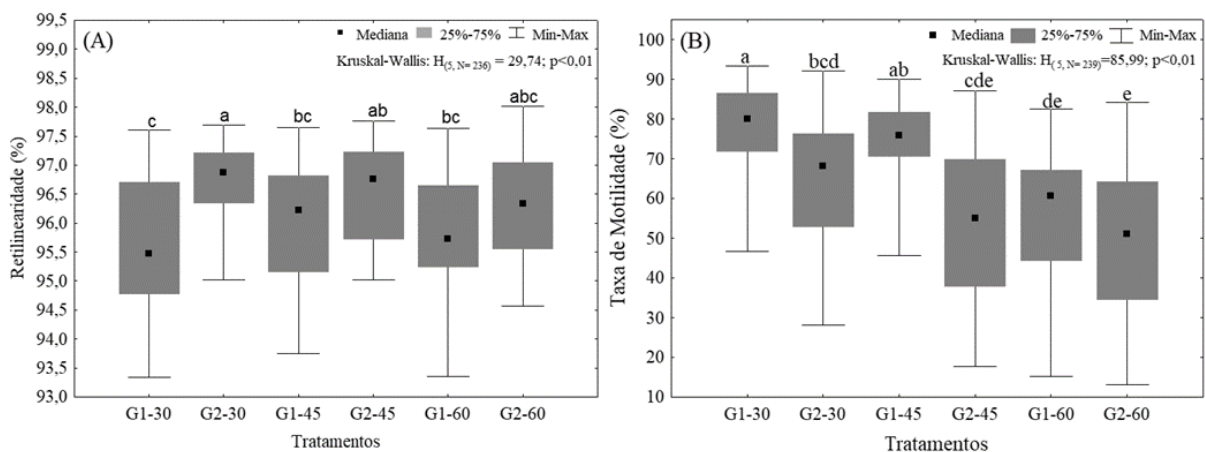


Figura 4. Retilinearidade (STR) e motilidade espermática (MOT) obtidas em 10 segundo pós ativação em 100 frames de vídeo por meio do software livre ImageJ/plugin CASA para espermatozoides de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) Retilinearidade (%); (B) Taxa de motilidade espermática (%). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $P<0,01$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para avaliação realizada 30 segundos pós ativação, não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos para os parâmetros STR, PROG e BCF (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros espermáticos (média  $\pm$  desvio padrão) em 30 segundos pós ativação de machos de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno.

Tratamentos	STR (%)	PROG ( $\mu\text{m}$ )	BCF (Hz)	WOB (%)
<b>G1-30</b>	95,24 $\pm$ 1,09	921,66 $\pm$ 85,36	52,13 $\pm$ 2,46	58,35 $\pm$ 4,85
<b>G2-30</b>	95,78 $\pm$ 1,12	864,09 $\pm$ 94,18	54,84 $\pm$ 2,53	56,89 $\pm$ 6,92
<b>G1-45</b>	95,26 $\pm$ 1,16	911,77 $\pm$ 75,08	50,78 $\pm$ 2,60	56,86 $\pm$ 3,67
<b>G2-45</b>	95,96 $\pm$ 1,14	868,07 $\pm$ 62,09	54,69 $\pm$ 2,31	55,46 $\pm$ 7,08
<b>G1-60</b>	95,64 $\pm$ 1,02	882,01 $\pm$ 84,93	53,31 $\pm$ 2,42	57,80 $\pm$ 3,53
<b>G2-60</b>	95,75 $\pm$ 1,15	856,69 $\pm$ 89,53	54,77 $\pm$ 1,96	56,32 $\pm$ 7,60
<b>p-valor</b>	$F_{(2, n=221)}=1,33$ $p>0,05$	$F_{(2, n=221)}=0,76$ $p>0,05$	$F_{(2, n=222)}=4,31$ $p>0,05$	$H_{(5, N=228)}=4,24$ $p>0,05$

( $P>0,05$ ) demonstra que não houve diferença significativa de acordo com o teste de comparação de Kruskal-Wallis. STR: Retilinearidade; PROG: Progressão; BCF: Frequência do batimento transversal. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Para taxa de motilidade avaliada em 30s pós ativação (Figura 5A), observamos que para os tratamentos G1-30 e G1-45 (49,54 $\pm$ 21,09% e 53,14 $\pm$ 12,3%, respectivamente) não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ). O tratamento G1-60 (30,58 $\pm$ 17,29%), foi semelhante estatisticamente ( $p>0,05$ ) aos tratamentos G2-30 e G2-45 (24,45 $\pm$ 15,76% e 22,07 $\pm$ 15,18%, respectivamente), entretanto foi diferente ( $p<0,05$ ) quando comparado ao tratamento G2-60 (16,95 $\pm$ 14,14%), que apresentou o menor valor observado. Para essa variável também é observado declínio conforme o decorrer do experimento, entretanto, observamos maior diferença entre os tratamentos do G1 quando comparados aos tratamentos do G2.

Os dados observados para velocidade curvilinear (Figura 5B), mostram que para os tratamento G1-30 e G1-45 (61,67 $\pm$ 4,27  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e 61,36 $\pm$ 3,47  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente), não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ). O tratamento G1-60 (60,32 $\pm$ 4,22  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) foi igual estatisticamente ao tratamento G1-30. Os tratamentos G2-30, G2-45 e G2-60

( $61,86 \pm 5,07 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $59,26 \pm 5,0 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $60,39 \pm 5,43 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) não diferiram entre si e o tratamento G1-60, e apresentaram os menores valores observados.

Em velocidade média da trajetória (Figura 5C), é observado que os tratamentos G1-30, G1-45 e G1-60 ( $39,92 \pm 4,69 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $37,21 \pm 3,84 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $38,36 \pm 3,89 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). G2-30 obteve um valor médio de  $40,21 \pm 5,00 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , não diferindo do tratamento G2-45 e G2-60. Os tratamentos G2-45 e G2-60, apresentaram valores médios de  $36,92 \pm 4,17 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $38,04 \pm 4,12 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente, não diferindo entre si e o tratamento G2-30.

Para velocidade em linha reta (Figura 5D), entre os tratamentos G1-30, G2-30, G1-45 e G1-60 ( $38,19 \pm 4,53 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $38,79 \pm 4,7 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $36,42 \pm 3,85 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $36,77 \pm 3,7 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) não foi observada diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Os tratamentos G2-45 e G2-60 não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ), apresentando valores médios de  $35,46 \pm 3,98 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $36,63 \pm 4,0 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente.

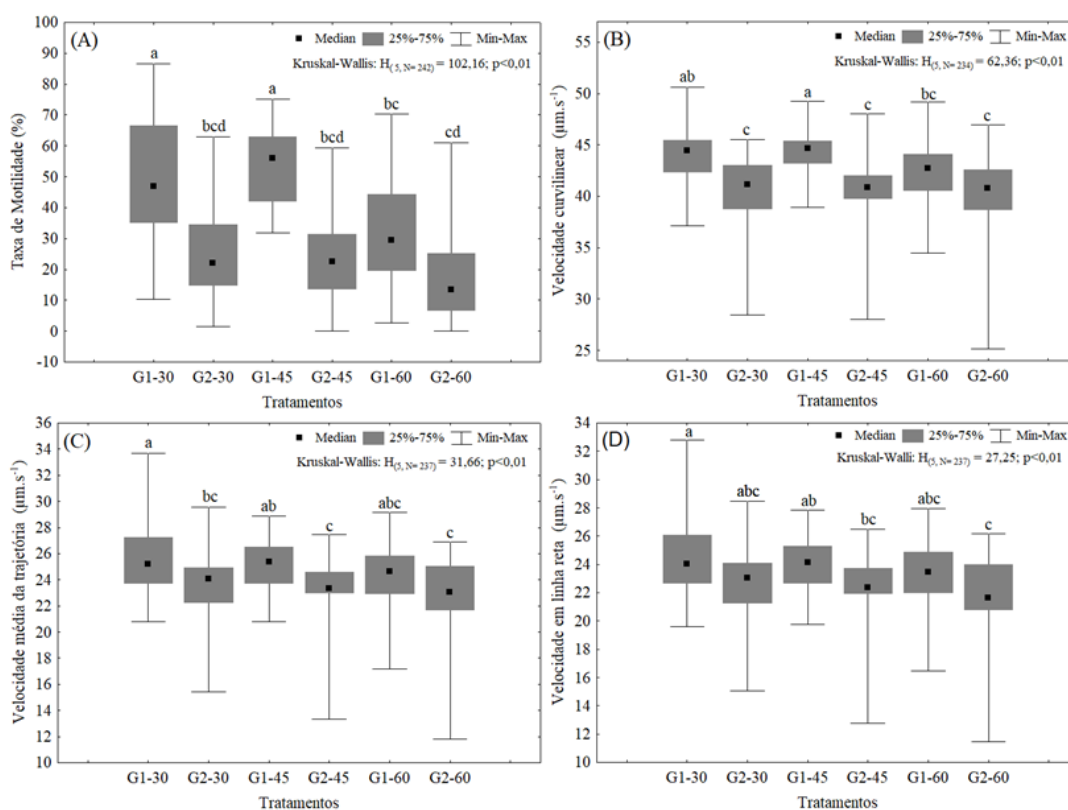


Figura 5. Motilidade espermática (MOT), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média da trajetória (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) obtidas em 30 segundo pós ativação em 100 frames de vídeo por meio do software livre ImageJ/plugin CASA para esperma de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. (A) motilidade espermática (%); (B) velocidade curvilinear ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), velocidade média da trajetória ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ), velocidade em linha reta ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e Oscilação

(%). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Tratamentos: G1-30: ambiente manipulado em 30 dias; G2-30: ambiente natural em 30 dias; G1-45: ambiente manipulado em 45 dias; G2-45: ambiente natural em 45 dias; G1-60: ambiente manipulado em 60 dias; G2-60: ambiente natural em 60 dias.

Em relação fêmeas, foi observado para o G1 em 30, 45 e 60 dias um percentual de fêmeas desovantes de 94,29%, 100% e 88, 24%, respectivamente. Já para o G2, observamos valores de 86,11%, 68,97% e 85,71% de fêmeas desovantes para os mesmos períodos (Figura 6).

Em relação as taxas de fertilização, foi observado que para o dia 30° (Figura 6A) houve diferença significativa entre o tratamento, onde o G1-30 apresentou maiores valores de fertilização quando comparado ao tratamento G2-30.

Para os tratamentos G1-45, G1-60, G2-45 e G2-60, não foi possível utilizar os dados coletados para a realização de uma análise estatística, devido a discrepância dos dados observados. Nos tratamentos anteriormente citados, a coleta de ovos por meio da extrusão foi realizada, entretanto, no momento da realização da contagem dos percentuais de fertilização, foi verificado que um número pequeno de ovos se apresentou viáveis, ou seja, as taxas de fertilização foram próximas a zero.

Na figura 6B, podemos observar a frequência de classes das taxas de fertilização para todos os dias de coleta, onde é visto que para o sistema G1 82,85 % das fêmeas apresentou taxas de fertilização entre 0-24%. Para o sistema G2, é observada uma frequência de 90,10% para a mesma classe. A alta frequência da classe de 0-24%, é em decorrência dos tratamentos coletados nos dias 45 e 60, que como dito anteriormente, apresentaram baixos percentuais de fertilização.

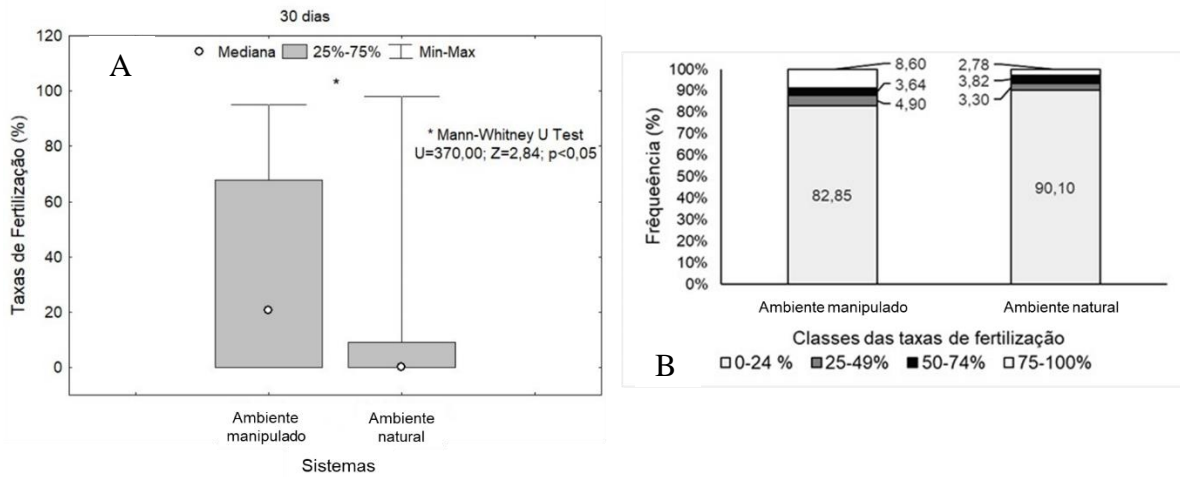


Figura 6. (A) Percentual de fertilização de fêmeas de *Astyanax lacustris* mantidas em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno submetidas a extrusão em 30 dias. (B) Percentual de fertilização por frequência de classes de fêmeas de *Astyanax lacustris* mantidas em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno submetidas a extrusão. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Para desova seminatural foi observado que para o dia 30º, o tratamento manipulado apresentou maior número de ovos por mililitro (mL), quando comparado ao tratamento sem controle (Figura 7). Para as desovas do dia 45º e 60º, não foi possível realizar análises estatística devido ao número de repetições que apresentaram desovas.

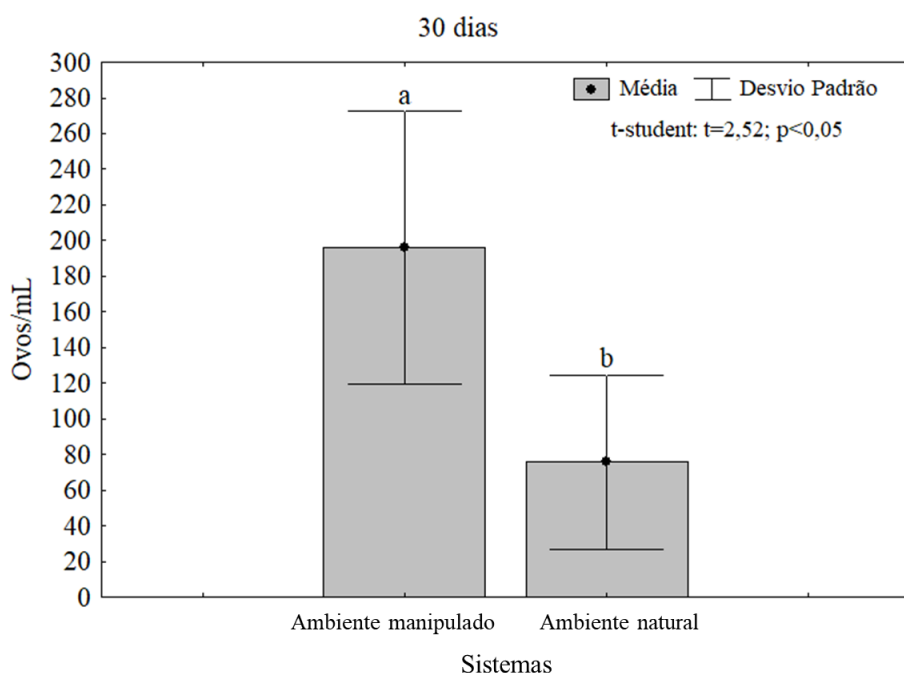


Figura 7. Número de ovos/mL na desova semi-natural em 30 dias de *Astyanax lacustris* mantidos em ambiente manipulado e ambiente natural durante o inverno. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste t-student

#### 4. Discussão

Conforme já indicado na literatura (Machado-Evangelista et al., 2019), no presente experimento corroborou que a temperatura, juntamente com o fotoperíodo, exerce papel fundamental quanto a reprodução e alimentação de *A. lacustris*. A influência da temperatura na alimentação tende a variar de acordo com a espécie em questão, mas geralmente, principalmente para as espécies de clima quente, o consumo de alimento aumenta em temperaturas altas, e quando a temperatura se encontra abaixo do conforto térmico da espécie, é comum observar alterações no comportamento do animal e diminuição no consumo de alimento (Volkoff and Ronnestad, 2020; Lall and Tibbetts, 2009). É de conhecimento que a maturação gonadal dos peixes também sofre influência do estado nutricional do indivíduo (Volkoff and Londres, 2018; Bailly et al., 2008; Bazzoli et al., 1997), podendo ocorrer em alguns casos redução no peso do animal, já que grande parte da energia ganha é direcionada para o desenvolvimento gonadal (Reading et al., 2017; Maddock and Burton, 1998).

Os dados obtidos através do estudo realizado nos mostram comportamento semelhante ao visto pelos autores, onde observamos que os animais mantidos sobre

condições climáticas controladas (G1), apresentaram maior consumo de ração e comportamento mais ativo, quando comparado aos animais expostos as condições naturais da estação (G2). Foi observado durante o experimento, que os animais do grupo G2 não apresentaram aumento significativo de massa corporal, o que pode ser resultado da baixa atividade metabólica e consumo de ração. A baixa quantidade de gametas do grupo G2, também pode ser em decorrência desse comportamento, já que durante o período de inverno os animais direcionam sua energia para a sobrevivência, tendo em vista, que um ambiente em condições desfavoráveis reduz as condições para sobrevivência dos ovos e larvas.

Durante a coleta no 60º dia, entre as variáveis avaliadas, é visto que o tratamento G1 e G2, não diferiram entre si ( $p>0,05$ ), o que pode ser resultado da condição climática que foi observada durante a semana, onde a temperatura do ambiente sem controle chegou próximo aos 20°C. Segundo Yasui et al. (2020), O lambari (*A. lacustris*), apresenta picos de desovas durante o período mais quente e chuvoso do ano, meses esses que, podem se estender de setembro a março, dependendo da variação climática do ano. Os mesmos autores verificaram que a temperatura ideal para o início do período reprodutivo da espécie, se encontra entre 26 a 28°C. Entretanto, Piva (2014) já observou em seus estudos fêmeas aptas a reprodução em temperatura de até 20 °C, porém alguns estudos mostram que regimes atípicos de temperatura podem resultar em mudanças no tempo e duração do período reprodutivo, podendo afetar a qualidade e quantidade dos gametas produzidos (Siqueira-Silva et al., 2015; Durant et al., 2007; Majhi and Choudhary, 2014). Pinheiro et al. (2020) e Postingel-Quirino et al. (2021), verificaram que o *A. lacustris* apresenta espermiacão mais rápida quando mantidos em altas temperaturas.

Foi observado que a produtividade, principalmente se tratando das fêmeas, aumentou devido a manipulação da temperatura e fotoperíodo durante o período experimental. Já o grupo G2 apresentou os menores valores ao decorrer do experimento, onde é observado que a fecundidade relativa foi significativamente menor quando comparado ao G1. Tal comportamento já foi relatado por Wang et al. (2014) em estudos observando o comportamento reprodutivo de diferentes espécies de carpa, onde foi visto que baixas temperaturas podem atrasar ou inibir a produção de gametas. Jesus et al. (2017) descreve que para *A. lacustris* a vitelogênese e a espermatogênese aparentemente ocorrem durante todo o ano, porém, Portella et al. (2021) e Galvão et al. (2016) destacam que embora isso seja possível, a produção de gametas viáveis é menor, quando comparado a estação reprodutiva. Estudos realizados por Brambila-Souza et al., (2019) e Machado-

Evangelista et al., (2019), utilizando terapias hormonais e ambientais comprovam a viabilidade da obtenção de gametas viáveis de *Astyanax ssp.* fora da estação reprodutiva.

O fotoperíodo como dito anteriormente, é um fator que controla os ritmos sazonais e diários em organismos vivos, principalmente em peixes. Norberg et al., (2004) propõe que um fotoperíodo comprimido ou estendido pode permitir a produção de gametas durante todo o ano, tendo em vista que o fotoperíodo está atrelado ao desenvolvimento gonadal dos peixes. Para os ciprinídeos, o início da ovogênese requer fotoperíodo decrescente, e a maturação gonadal requer fotoperíodo crescente (Wang et al., 2010). Entretanto, Shahjahan et al., (2020), observou que um fotoperíodo prolongado inibe o crescimento e as funções reprodutivas em *Labeo rohita*. Já El-Sayed and Kawanna, (2004), verificaram que um fotoperíodo prolongado aumentou a fecundidade em tilápias. Segundo Bairwa et al. (2013), os ciclos claros e escuros são necessários para a reprodução, pois proporcionam harmonização interna para a síntese rítmica e liberação de hormônios como a melatonina, que atua diretamente na eixo hipotálamo-hipófise-gônada (HPG).

Em relação ao diâmetro de oócitos observados nesse trabalho, encontramos valores máximos de  $661,69 \pm 27,97 \mu\text{m}$  e mínimos de  $625,12 \pm 40,25 \mu\text{m}$ , onde não foi observada diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Em um estudo realizado por Galvão et al., (2016), foi observado que o *A. lacustris* possui desova parcelada e desenvolvimento oocitário assincrônico, onde os ovócitos vitelogênicos possuíam em média  $471,68 \pm 160,55 \mu\text{m}$ . Entretanto, em um estudo realizado por Machado-Evangelista et al., (2019), foi verificado um tamanho médio de  $608,16 \pm 0,01 \mu\text{m}$  para ovos de *A. lacustris*. Já Santos et al., (2016), observou valores de  $695,12 \pm 3,20 \mu\text{m}$  para a mesma espécie.

Para o parâmetro concentração espermática não houve diferença significativa entre os tratamentos, onde foi observado valores máximos de  $16,1 \pm 7,87(8,0)$  e mínimos de  $11,3 \pm 3,60(7,0)$ . Em um estudo realizado por Rodríguez-Ballesteros et al., (2022), foi observado que a temperatura favorece a maturação e qualidade espermática, onde machos expostos por 24 h a  $25^\circ\text{C}$ , apresentaram maior concentração espermática em comparação com  $20^\circ\text{C}$  ou  $30^\circ\text{C}$ . Foi observado que para as análises computadorizadas realizadas 10 segundos pós-ativação, houve diferença somente para MOT e STR. Carneiro-Leite et al., (2020), encontrou para sémen fresco de *A. lacustris*, valores de VCL ( $51,1 \mu\text{m/s}$ ), VSL ( $41,4 \mu\text{m/s}$ ) e VAP ( $48,2 \mu\text{m/s}$ ). Nesse estudo, os valores de VCL foram maiores do que o observado pelo autor, já os parâmetros de VSL e VAP apresentaram valores menores.

Para o parâmetro motilidade espermática verificamos que os tratamentos com controle ambiental em 30 e 45 dias ( $78,26 \pm 10,85\%$  e  $74,75 \pm 16,62\%$ ), apresentaram melhores valores de motilidade. Esses valores corroboram com o que foi observado por Carneiro-Leite et al., (2020), onde ela verificou uma motilidade de  $76,6 \pm 11,2\%$  para sêmen fresco. Lázaro et al., (2021), encontrou para machos diploides normais, valores de motilidade de  $91,50 \pm 2,90$ , VCL de  $65,34 \pm 11,64$ , VAP de  $50,12 \pm 9,87$  e VSL de  $46,30 \pm 11,70$ . Já Gonçalves et al., (2018), encontrou para motilidade um valor de  $72,9 \pm 0,004\%$ , entretanto, os valores de velocidade encontrados por ele diferem do que observamos no estudo, assim, ele verificou para VCL, VAP e VSL, valores de  $84,4 \pm 0,40 \mu\text{m.s}^{-1}$ ,  $113,25 \pm 0,84 \mu\text{m.s}^{-1}$  e  $95,374 \pm 0,77 \mu\text{m.s}^{-1}$ , respectivamente. Esses dados mostram que os valores encontrados de motilidade e velocidade para os tratamentos do grupo G1, estão dentro dos valores que encontramos na literatura, o que demonstra a viabilidade da utilização desse tipo de sistema. Senior et al., (2016) e Boschetto et al., (2011), destacam que a qualidade e velocidade espermática é um dos parâmetros essenciais para a fertilização, e que sua alteração pode afetar o sucesso reprodutivo.

Para as análises computadorizadas realizadas 30 segundos pós-ativação, observamos um comportamento diferente dos dados, onde os parâmetros de velocidade diferiram ( $p < 0,05$ ) entre os sistemas. O tratamento G1, apresentou valores de velocidade maiores do que o tratamento G2. Para motilidade espermática observamos o mesmo comportamento, onde os tratamentos do G1 em 30 e 45 dias, apresentaram maiores valores de motilidade ( $49,54 \pm 21,09\%$  e  $53,14 \pm 12,3\%$ , respectivamente) quando comparados aos tratamentos do G2. Alavi et al., (2012), observou que a capacidade de fertilização dos espermatozoides declina após ativação em decorrência da queda da motilidade e velocidade, o que ocorre devido a diminuição do ATP e mudanças morfológicas do espermatozoide.

Cosson et al., (2008b), acreditam que a motilidade está ligada ao BCF, onde eles observaram que quando ocorre redução do BCF, há um aumento na duração da motilidade. Tal comportamento está ligado as reservas de ATP (Cosson et al., 2008a), que segundo Cosson et al., 2010, quanto maiores os valores de BCF, maior será o consumo de energia, o que resultará em redução no tempo de motilidade devido à falta de ATP. No presente experimento, observamos que para os dados avaliados em 10s pós-ativação, o parâmetro frequência do batimento transversal (BCF) foi menor após 30 e 45 dias em animais mantidos em ambiente controlado (G1), sendo que 30s pós-ativação, os

valores de BCF apresentaram comportamentos semelhantes em ambas condições (G1 e G2).

Durante o período de coleta do dia 45°, foi observada os menores valores de temperatura no momento da desova, onde a água do sistema de incubação de água, bem como a água da reprodução semi-natural, estavam entre 17,2 a 17,9°C. A coleta realizada durante esse período resultou em baixa quantidade de animais aptos a reprodução e baixas taxas de fertilização. Dados sobre a incubação em temperaturas abaixo de 20°C são escassas. Machado-Evangelista et al., (2019), verificou que a tolerância térmica de *A. lacustris* se encontram entre 20,2 a 27,2°C. Os mesmos autores observaram que o *A. lacustris* mantido em ambiente controlado, apresentou uma taxa de fertilização de 84,85±3,60%. Estudos sobre desenvolvimento embrionário e percentual de larvas normais, foram realizados por Pereira-Santos et al., (2016), onde eles não observaram diferenças significadas entre embriões incubados em água a 22, 26 ou 30 °C. Assim, a partir dos dados de fertilização é visto a necessidade de aprofundamento por parte desses autores, em relação ao manejo dos reprodutores no momento da extrusão e a temperatura ideal para incubação dos ovos, tendo em vista que para todos os dias de desovas a temperatura se encontrava a baixo de 20 °C, o que pode ter resultado em baixas taxas de fertilização.

## 5. Conclusão

Conclui-se que a manipulação ambiental (temperatura e fotoperíodo) durante o inverno influencia positivamente sobre a quantidade e qualidade dos gametas e possibilita obter gametas viáveis de *A. lacustris* em período fora do convencional para a espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, M.R., Silva, L.M. de J., Figueiredo-Ariki, D.G., Sato, R.T., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., 2021. Reproductive performance of lambari (*Astyanax altiparanae*) in a seminatural system using different protocols. *Aquaculture Research* 52(2), 471-483. <https://doi.org/10.1111/are.14905>

Adamov, N.S.M., Nascimento, N.F., Maciel, E.C.S., Pereira-Santos, M., Senhorini, J.A., Calado, L.L., Machado-Evangelista, M., Nakaghi, L.S.O., Guerrero, A.H.M., Fujimoto, T., Yasui, G.S., 2016. Triploid Induction in the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, Using Temperature Shock: Tools for Conservation and Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(5), 741– 750. <http://dx.doi.org/10.1111/jwas.12390>

Agostinho, A.A., Marques, E.E., Agostinho, C.S., Almeida, D.A. de., Oliveira, R.J. de., Melo, J.R.B. de., 2007. Fish ladder of Lajeado Dam: migrations on one-way routes? *Neotropical Ichthyology* 5(2), 121–130. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000200005>

Alavi, S.M.H., Hatf, A., Psenicka, M., Kaspar, V., Boryshpolets, S., Dzyuba, B., Cosson, J., Bondarenko, V., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., 2012. Sperm biology and control of reproduction in sturgeon: (II) sperm morphology, acrosome reaction, motility and cryopreservation. *Fish Biology and Fisheries* 22(4), 861-886. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9270-x>

Alix, M., Kjesbu, O.S., Anderson, K.C., 2020. From gametogenesis to spawning: How climate-driven warming affects teleost reproductive biology. *Journal of Fish Biology* 97, 607–632. <https://doi.org/10.1111/jfb.14439>

Bailly, D., Agostinho, A.A., Suzuki, H.I., 2008. Influence of the flood regime on the reproduction of fish species with different reproductive strategies in the Cuiabá River, Upper Pantanal, Brazil. *River Research and Applications* 24, 1218-1229. <https://doi.org/10.1002/rra.1147>

Bairwa, M.K., Saharan, N., Rawat, N., Jakhar, K.D., Bera, A., 2013. Photoperiod, melatonin and its importance in fish reproduction. *Central European Journal of Experimental Biology* 2, 7–15.

Bazzoli, N., Santos, J.E. dos, 1997. Biologia reprodutiva de quatro espécies de peixes forrageiros da represa de Três Marias, MG. *Revista Bios* 5(5), 17-28.

Boeuf, G., Falcon, J., 2001. Photoperiod and growth in fish. *Vie et Milieu* 51 (4), 247–266.

Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M.R.M., Sanches, E.A., Piana, P.A., 2010. Digestible energy level on reproductive and zootechnical performance and lipids deposition in hepatocytes of the Nile tilapia males. *Revista Brasileira De Zootecnia* 39(5), 941-949. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000500001>

Brambila-Souza, G., Gomes, A.D., Honji, R.M., Hilsdorf, W.S., Moreira, R.G., 2019b. Distinctive reproductive tactics between sympatric specimens of *Astyanax aff. fasciatus* in the wild and in captivity. *Environmental Biology of Fishes* 102, 1179–1191. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00898-z>

Brambila-Souza, G., Mylonas, C.C., Mello, P.H., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., Tolussi, C.E., Moreira, R.G., 2019a. Thermal manipulation and GnRHa therapy applied to the reproduction of lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae* females

(Characiformes: Characidae) during the non-breeding season. *General and Comparative Endocrinology* 279(1), 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.02.016>

Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special references to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197(1), 63–98. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00583-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00583-X)

Caneppele, D., Honji, R.M., Hilsdorf, A.W.S., Moreira, R.G., 2009. Induced spawning of the endangered Neotropical species *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology* 7(4), 759–762. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252009000400026>

Carneiro-Leite, L., Bashiyo-Silva, C., Oliveira, Y.A.A., Borges, L.P., Sanchez, M.P., Silva, L.G. da., Lobato, S.I.R., Rodrigues-Lisoni, F.C., Veríssimo-Silveira, R., Ninhaus-Silveira, A., 2020. Seminal characteristics and sensitivity of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) sperm to cryoprotective solutions based on dimethylsulfoxide and methylglycol. *Neotropical Ichthyology* 18(3): e200039. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0039>

Cassel, M., Chehade, C., Branco, G.S., Caneppele, D., Romagosa, E., Borella, M.I., 2017. Ovarian development and the reproductive profile of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) over one year: Applications in fish farming. *Theriogenology* 98, 1-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.044>

Chehade, C., Cassel, M., Borella, M.I., 2015. Induced reproduction in a migratory teleost species by water level drawdown. *Neotropical Ichthyology* 13(1), 205-212. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2014002>

Cosson, J., Groison, A.L., Fauvel, C., Suquet, M., 2010. Description of hake (*Merluccius merluccius*) spermatozoa: flagellar wave characteristics and motility parameters in various situations. *Journal of Applied Ichthyology* 26, 644–652. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01563.x>

Cosson, J., Groison, A.L., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C., Billard, R., 2008a. Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers. *Reproduction* 136, 277–294. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0522>

Cosson, J., Groison, A.L., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C., Billard, R., 2008b. Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. *Journal of Applied Ichthyology* 24, 460–486. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01151.x>

Duncan, N.J., Sonesson, A.K., Chavanne, H., 2013. Principles of finfish broodstock management in aquaculture: control of reproduction and genetic

improvement. In: Allan, G. & Burnell, G. (Eds.). Advances in aquaculture hatchery technology. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 23-75.

Durant, J.M., Hjermann, D.O., Ottersen, G., Stenseth, N.C., 2007. Climate and the match or mismatch between predator requirements and resource availability. *Climate Research* 33, 271–283. <https://doi.org/10.3354/cr033271>

Elisio, M., Chalde, T., Miranda, L., 2014. Seasonal changes and endocrine regulation of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) oogenesis in the wild. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 175, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.05.020>

Elisio, M., Vitale, A., Miranda, L.A., 2015. Influence of climate variations on Chascomús shallow lake thermal conditions and its consequences on the reproductive ecology of the Argentinian Silverside (*Odontesthes bonariensis* Actinopterygii, Atherinopsidae). *Hydrobiologia* 752(1), 155–166. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1945-y>

El-Sayed, A.F.M., Kawanna, M., 2004. Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. *Aquaculture* 231(1-4), 393–402. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.03.001>

Falcon, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf G., 2007. Melatonin effects on the hypothalamo– pituitary axis in fish. *Endocrinology and Metabolism* 18(2), 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2007.01.002>

Falcon, J.H., Migaud, J., Munoz-Cueto, A., Carrillo, M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology* 165, 469–482. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.04.026>

Galvão, G.A., Silva, A.L.B., Cardoso, A.S., Santos, H. da S., Pereira, P.A.N., Ribeiro, L.B., 2016. Comparative gonadal histomorphometry of *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) and *Psellogrammus kennedyi* (Eigenmann, 1903) (Characiformes, characidae) from a reservoir in brazilian semiarid. *Boletim do Instituto de Pesca* 42(4): 734-748. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n4p734>

Garutti, V., 2003a. Piscicultura ecológica: Lambaricultivo. São Paulo: Editora UNESP, p. 35-65

Garutti, V., 2003b. Revalidação de *Astyanax rupununi* Fowler, 1914 (Teleostei, Characidae) e descrição de duas espécies novas para o gênero. São Paulo: Papéis Avulsos de Zoologia 43(1), 1-9. <https://doi.org/10.1590/S0031-10492003000100001>

Garutti, V., BRITSKI, H.A., 2000). Descrição de espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS* 13: 65-88.

Gonçalves, B.B., Nascimento, N.F., Santos, M.P., Bertolini, R.M., Yasui, G.S., Giaquinto, P.C., 2018. Low concentrations of glyphosate-based herbicide cause complete loss of sperm motility of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris*. *Journal of Fish Biology* 92, 1218–1224. <https://doi.org/10.1111/jfb.13571>

Jesus, L.W.O., Bogerd, J., Vieceli, F.M., Branco, G.S., Camargo, M.P., Cassel, M., Moreira, R.G., Yan, C.Y.I., Borella, M.I., 2017. Gonadotropin subunits of the characiform *Astyanax altiparanae*: Molecular characterization, spatiotemporal expression and their possible role on female reproductive dysfunction in captivity. *General and Comparative Endocrinology* 246, 150–163. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.12.004>

Lall, S.P., Tibbetts, S.M., 2009. Nutrition, feeding, and behavior of Fish. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice* 12, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2009.01.005>

Langeani, F., Castro, R.M.C., Oyakawa, O.T., Shibatta, O.A., Pavanelli, C.S., Casatti, L., 2007. Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropical* 7, 181-197. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032007000300020>

Lázaro, T.M., Rocha, N.R.A., Monzani, P.S., Nakaghi, L.S.O., Senhorini, J.A., Yasui, G.S., Nascimento, N.F., 2021. Sperm quality of spontaneously occurring gynogenetic males in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. *Journal of Applied Ichthyology* 37, 909–915. <https://doi.org/10.1111/jai.14244>

Lima, F.C.T., Malabarba, L.R., Buckup, P.A., Pezzi da Silva, J.F., Vari, R., Harold, P. A. 2003. Genera incertae sedisin Characidae. In *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America* (eds. R.E. Reis, S.O. Kullander & C.J. Ferraris Jr), pp. 106–68. Porto Alegre: Edipucrs.

Lira, L.G.V., Kuradomi, R.Y., Souza, T.G., Hainfellner, P., Batlouni, S.R., 2018. *Astyanax altiparanae* ovarian maturation after spawning in water recycling systems. *Boletim do Instituto de Pesca* 44(4): e207. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2018.44.4.207>

Machado-Evangelista, M., Pereira, M.P., Sussel, F.R., Romagosa, E., 2019. Environmental manipulation on *Astyanax altiparanae* out-of-season spawning. Latin American Journal of Aquatic Research 47(2), 292–302. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-9>

Maddock, D.M., Burton, M.P.M., 1998. Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. Journal of Fish Biology 53(5), 928-944. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb00454.x>

Majhi, S.K., Choudhary, B.K., 2014. Elevated water temperature induces germ cell proliferation in loach *Lepidocephalus guntea* (Hamilton): implication for brood stock development. National Academy Science Letters 37, 107–111. <https://doi.org/10.1007/s40009-013-0208-1>.

Miranda, L.A., Chalde, T., Elisio, M., Strüssmann, C.A., 2013. Effects of global warming on fish reproductive endocrine axis, with special emphasis in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. General and Comparative Endocrinology 192, 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.034>

Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanui, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology 165(3), 516 - 534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>

Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanui, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology 165(3), 516 - 534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>

Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y., Zohar, Y., 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHa delivery system. Aquaculture 153, 301-311. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00021-5)

Norberg, B., Brown, C.L., Halldorsson, A., Stensland, K., Björnsson, B.T., 2004. Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture 229, 451–467. <https://doi.org/10.1007/s10695-005-4319-6>

Olden, J.D., Naiman, R.J., 2010. Incorporating thermal regimes into environmental flows assessments: modifying dam operations to restore freshwater ecosystem integrity. Freshwater Biology 55, 86–107. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02179.x>

Pankhurst, N.W., Porter, M.J.R., 2003 Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiol Biochem* 28:385–389. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000030602.51939.50>

Pereira-Santos, M., Shimoda, E., Andrade, A.F.C., Silva, L.A., Fujimoto, T., Senhorini, J.A., Yasui, G.S., Nakaghi, L.S.O., 2017. Grooves surrounding the micropyle decrease the inseminating dose in fish. *Zygote* 25(6), 731 – 739. <https://doi.org/10.1017/S0967199417000624>

Pereira-Santos, M., Yasui, G.S., Xavier, P.L.P., Adamov, N.S. de M., Nascimento, N.F., Fujimoto, T., Senhorini, J.A., Nakaghi, L.S.O., 2016. Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). *Zygote* 24: 795-807. <https://doi.org/10.1017/S0967199416000101>

Pinheiro, J.P.S., Assis, C.B., Sanches, E.A., Moreira, R.G., 2020. Aluminum, at an environmental concentration, associated with acidic pH and high water temperature, causes impairment of sperm quality in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). *Environmental Pollution* 262, 114252. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114252>

Piva, L.H. Estudo da diferenciação sexual em *Astyanax altiparanae*. Universidade Estadual do Norte do Paraná, 2014.

Portella, A.C., Arsentales, A.D., Cavallari, D.E., Smith, W.S., 2021. Efeito da sazonalidade na reprodução de peixes Characiformes em um rio Neotropical. *Iheringia, Série Zoologia* 111: e2021012. <https://doi.org/10.1590/1678-4766e2021012>

Postingel-Quirino, P.P., Rodrigues, M.S., Cabral, E.M.S., Siqueira-Silva, D.H., Mori, R.H., Butzge, A.J., Nóbrega, R.H., Ninhaus-Silveira, A., Veríssimo-Silveira, R., 2021. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a Neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). *Fish Physiology and Biochemistry* 47(3), 747–755. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00869-7>

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(7): 1879-1887. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.017>.

Reading, B.J., Sullivan, C.V., Schilling, J., 2017. Vitellogenesis in Fishes. *Aquaculture* 202 (3–4), 205-220. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00772-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00772-4)

Rodríguez-Ballesteros, V., Mendoza-Garfias, B., Ulloa-Arvizu, R., Balcazar, A., Ornelas-García, P., 2022. Morphological description of gametes in cave and surface populations of *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853). *Zygote* 30, 719–729. <https://doi.org/10.1017/S0967199422000223>

Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Baggio, D.M., De Souza, B.E., 2009. Insemination dose for artificial fertilization of dourado oocytes. *Revista Brasileira De Zootecnia* 38(11), 2091- 2098. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001100003>

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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02598.x>.

Sanches, E.A., Caneppele, D., Okawara, R.Y., Damasceno, D.Z., Bombardelli, R.A., Romagosa, E., 2016. Inseminating dose and water volume applied to the artificial fertilization of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae): Brazilian endangered fish. *Neotropical Ichthyology* 14 (1). <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140158>

Sanches, E.A., Marcos, R.M., Baggio, D.M., Tessaro, L., Balen, R.E., Bombardelli, R.A., 2011. Sperm concentration estimate of fish semen using espermatocrit method. *Revista Brasileira De Zootecnia* 40(6), 1163-1167. <https://doi.org/10.1590/S151635982011000600001>

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. <https://doi.org/10.1111/jai.12165>

Santos, M.P., Yasui, G.S., Xavier, P.L.P., Adamov, N.S.M., Nascimento, N.F., Fujimoto, T., Senhorini, J.A., Nakaghi, L.S.O., 2016. Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). *Zygote* 24, 795–807. <https://doi.org/10.1017/S0967199416000101>

Sato, Y., Sampaio, E.V., Fenerich-Verani, N., Verani, J.R., 2006. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (*Osteichthyes*, *Characiformes*) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23(1): 267-273. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752006000100021>

Shahjahan, M., Al-Emran, M., Islam, M., Baten, A., Rashid, H., Haque, M., 2020. Prolonged photoperiod inhibits growth and reproductive functions of rohu *Labeo rohita*. *Aquaculture Reports* 16, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100272>

Shahjahan, M., Kitahashi, T., Ando, H., 2017. Temperature affects sexual maturation through the control of kisspeptin, kisspeptin receptor, GnRH and GTH subunit gene expression in the grass puffer during the spawning season. *General and Comparative Endocrinology* 243, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.11.012>

Shahjahan, M., Kitahashi, T., Ogawa, S., Parhar, I.S., 2013. Temperature differentially regulates the two kisspeptin system in the brain of zebrafish. *General and Comparative Endocrinology* 193, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.07.015>

Siqueira-Silva, D.H.D., Santos-Silva, A.P., Ninhaus-Silveira, A., Veríssimo-Silveira, R., 2015. The effects of temperature and busulfan (Myleran) on the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) spermatogenesis. *Theriogenology* 84, 1033–1042. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.06.004>

Streit Jr., D.P., Moraes, G.V., Ribeiro, R.P., Povh, J.A., Souza, E.D., Oliveira, C.A.L., 2004. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar* 7, 157- 162.

Streit Jr., D.P., Ribeiro, R.P., Moraes, G.V., Mendez, L.V., Gallo, J.M., Digmayer, M., Povh, J.A., 2006. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. *Bioscience Journal* 22(3), 119-125.

Veras, G.C., Murgas, L.D.S., Zangeronimo, M.G., Oliveira, M.M., Rosa, P.V., Felizardo, V.O., 2013. Ritmos biológicos e fotoperíodo em peixes. *Archivos de Zootecnia* 62, 25-43. <https://doi.org/10.21071/az.v62iREV.1955>

Volkoff, H., London, S., 2018. Nutrition and reproduction in fish. *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edition) 6, 743-748. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20624-9>

Volkoff, H., Ronnestad, I., 2020. Effects of temperature on feeding and digestive processes in fish. *Temperature* 7(4), 307-320. <https://doi.org/10.1080/23328940.2020.1765950>

Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O., Bairlein, F., 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416, 389–395. <https://doi.org/10.1038/416389a>

Wang, J.N., Li, C., Duan, X.B., Luo, H.H., Feng, S.X., Peng, Q.D., Liao, W.G., 2014. The relationship between thermal regime alteration and spawning delay of the four

major Chinese carps in the Yangtze River below the three Gorges Dam. *River Research and Applications* 30, 987–1001. <https://doi.org/10.1002/rra.2691>

Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P. Milla, S., Fontaine, P., 2010. Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. *Reviews in Aquaculture* 2, 209–222. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01037.x>

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(3), 661-672. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>

Yasui, G.S., Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A., Nascimento, N.F., Foresti, F. *Biologia e criação do Lambari-do-rabo-amarelo (Astyanax altiparanae)*. In: Baldisserotto, B. (Org.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 3.ed., rev., atual. e ampl. – Santa Maria: Ed. UFMS, 2020. pp. 113-126.

YASUI, G.S., Senhorini, J.A., Shimoda, E., Pereira-Santos, M., Nakaghi, L.S.O., Fujimoto, T., Arias-Rodriguez, L., Silva, L.A., 2015. Improvement of gamete quality and its short-term storage: An approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal* 9(3), 464-470. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002511>

Yu, L., Lin, J., Chen, D., Duan, X., Peng, Q., Liu, S., 2018. Ecological flow assessment to improve the spawning habitat for the four major species of carp of the Yangtze River: a study on habitat suitability based on ultrasonic telemetry. *Water* 10:600. <https://doi.org/10.3390/w10050600>

Zhu, D.M., Yang, K., Gul, Y., Song, W., Zhang, X., Wang, W., 2014. Effect of photoperiod on growth and gonadal development of juvenile topmouth gudgeon *Pseudorasbora parva*. *Environmental Biology of Fishes* 97 (2), 147–156. <https://doi.org/10.1007/s10641-013-0133-7>

## **CAPÍTULO II – ARTIGO**

### **Desempenho reprodutivo de Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) mantido em sistema de bioflocos, tanque escavado e recirculação.**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a viabilidade da manutenção de reprodutores de *A. lacustris* em sistemas fechados, entre eles recirculação, tanque escavado e bioflocos. Para tal, foram utilizados três sistemas sendo eles, BFT – tanque circular elevado de 10 m<sup>3</sup> contendo Bioflocos; TANK - tanque retangular escavado lonado exposto as condições naturais de 20m<sup>3</sup> e RAS - tanque circular elevado de 10 m<sup>3</sup>, provido de sistema de recirculação de água. Em todos os sistemas, os peixes foram mantidos em hapas (malha 2mm, 1x1x1,5m) durante 45 dias até a reprodução, aos quais as hapas foram consideradas como repetições. Duas formas de reprodução foram utilizadas, à reprodução seminatural e à “seco” e avaliou-se os parâmetros reprodutivos de machos e fêmeas. Para os parâmetros espermáticos avaliados não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos. Para os parâmetros reprodutivo das fêmeas, observamos que o BFT apresentou maiores valores de fecundidade absoluta e taxa de fertilização, entretanto o tratamento TANK não diferiu ( $p>0,05$ ) dos tratamentos BFT e RAS, uma vez que para os dados de fertilização observamos o mesmo comportamento. Em relação a desova seminatural verificou-se que o BFT se mostrou mais eficiente em relação aos demais, com os maiores ( $p<0,05$ ) valores de fertilização. Sendo assim, verificamos que é possível manter reprodutores de *Astyanax lacustris* em sistema BFT, já que os animais apresentam melhor desempenho reprodutivo no quesito produção e qualidade de ovos quando comparado ao TANK e ao RAS.

**Palavras-chave:** sémen; reprodução; sistema de aquicultura; flocos microbianos.

---

\* Artigo escrito sob as normas da Revista Aquaculture.

## 1. INTRODUÇÃO

O lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax lacustris* sinónimo de *A. altiparanae* (Lucena and Soares et al., 2016) é uma espécie de pequeno porte e crescimento rápido, pode alcançar a maturidade sexual por volta dos quatro meses de idade (Porto-Foresti et al., 2001). Nas últimas duas décadas, a criação de lambari tem sido desenvolvida como uma fonte alternativa de financiamento para produtores no Brasil (Valladão et al., 2018). Devido ao baixo nível trófico e flexibilidade da espécie (Cassel et al., 2017), o lambari apresenta potencial para ser produzido em grande escala e de forma sustentável, promovendo o desenvolvimento socioeconómico de uma região e conservar os recursos naturais (Fonseca et al., 2017).

A plasticidade comercial da espécie é grande, podendo ser comercializada de diversas formas, entre elas podemos destacar o mercado de pesca esportiva (Silva et al., 2011a) e pesca comercial (isca para pesca de atum) (Yasui et al., 2020), onde o animal é comercializado como isca viva. Devida as características e sabor da espécie, ela vem se tornando um alvo no mercado de corte (alimentação humana), onde ocorre alta aceitabilidade pelos consumidores (Silva, et al., 2011b). Na pesquisa, devido a sua flexibilidade, o lambari tem sido destaque em diferentes áreas, como monitoramento da qualidade da água (Fernandes et al., 2019), toxicologia (Tolussi et al., 2018; Pinheiros et al., 2020;2021), reprodução artificial (Yasui et al., 2015), triploidia (Adamov et al., 2017), biologia reprodutiva (Siqueira-Silva et al., 2017), funções de células reprodutivas (Costa et al., 2014) e funções hormonais (Branco et al., 2019).

Desta forma, torna-se atrativa a produção do lambari-do-rabo-amarelo, visto que a aquicultura é uma das atividades do agronegócio que apresenta maior taxa de crescimento, possuindo potencial para atender à crescente demanda e escassez de alimento (FAO, 2022). A maior parte da produção aquícola é proveniente de sistemas semi-intensivos, que geralmente apresentam contínua renovação de água. Nesse sentido, novas tecnologias têm sido propostas com foco na intensificação do cultivo com o mínimo de descarte de água (Durigon et al., 2020), gerando sistemas mais sustentáveis que buscam gerar menores cargas de efluentes no ambiente (Edwards, 2015). Diferentes sistemas produtivos podem ser utilizados na piscicultura, entretanto é necessário ter conhecimento da característica e hábitos da espécie a ser criada, tendo em vista que o sistema deve atender as necessidades fisiológicas dos animais.

Entre os sistemas considerados mais sustentáveis, podemos destacar o sistema de recirculação de água em aquicultura (RAS), que proporciona redução da quantidade de água utilizada e melhora a gestão dos resíduos, permitindo maior produtividade por área (Martins et al., 2010). Entretanto, o custo operacional do sistema de recirculação é alto quando comparado

aos sistemas convencionais, já que o mesmo apresenta maior custo de implantação e manutenção, e exige mão-de-obra capacitada em ambos os processos.

Outro sistema que vêm despertando grande interesse é a tecnologia de Bioflocos (*Biofloc Technology System* - BFT), que se baseia na ciclagem do nitrogênio (N) inorgânico, realizada por micro-organismos (Schryver et al., 2008; Azim and Little, 2008; Audelo-Naranjo et al., 2012), tendo como finalidade reduzir as concentrações de amônia ( $\text{NH}_3$   $\text{NH}_4^+$ ) e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), que são tóxicos para a maioria dos organismos aquáticos (Avnimelech, 2012). Tal processo, juntamente com aeração constante, agitação da coluna da água, adição de fontes de carbono orgânico (C:N) e controle de carbono inorgânico, resulta na formação de flocos microbianos que são formados por bactérias heterotróficas e autotróficas, fitoplâncton, zooplâncton e protozoários (Avnimelech et al., 1986; Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2012).

Devido ao uso limitado de água (troca mínima ou zero) e o mínimo de efluentes liberado no ambiente, esse sistema tem sido considerado uma alternativa mais ecológica de produção de organismos aquáticos, tendo em vista o maior controle contra escape de animais e/ou contaminação do ambiente com efluentes ou patógenos (Cyrino et al., 2010; Barbosa et al., 2015). Devido à alta capacidade de produção por metro cúbico pode ser considerado um sistema superintensivo (Schryver et al., 2008; Deng et al., 2018). O sistema BFT já se mostrou viável para a produção e/ou reprodução de *Cyprinus carpio* L. (Adineh et al., 2019; Minabi et al., 2020), *Rhamdia quelen* (Battistia et al., 2020), *Oreochromis niloticus* (Lima et al., 2018; Alvarenga et al., 2017) e *Clarias gariepinus* (Ekasari et al., 2016; Chen et al., 2020), entretanto, em espécies como *Brycon orbignyanus* (Sgnaulin et al., 2018), não foi observado um bom desempenho produtivo

Diante disso, pode-se verificar que diferentes sistemas produtivos são empregados nas pisciculturas, principalmente, em sistemas que geram menos impacto ambiental. Sendo assim, o estudo tem como objetivo avaliar a produção e qualidade de ovos e sêmen e a viabilidade da manutenção de reprodutores de *A. lacustris* em BFT, viveiro lonado e RAS.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *A. lacustris* foram provenientes de um plantel pertencente ao setor de piscicultura da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Regional do Vale do Ribeira, Pariquera-Açú, São Paulo, Brasil. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR) da Unesp, Registro, São Paulo, Brasil.

## 2.1. Delineamento experimental

Para realização do experimento utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado considerando três sistemas distintos. Cada sistema contou com três hapas (1x1,5x1m malha 2mm), sendo cada uma delas considerada como uma repetição. Cada hapa contia uma proporção de 1,5:1 (macho:fêmea), sendo ao total 90 machos (5,21±1,21 g e 7,80±0,55 cm) e 60 fêmeas (10,40±3,98 g e 8,99±0,96 cm) por hapa.

Os sistemas utilizados foram três tanques experimentais (Figura 1), sendo eles: (1) BFT – um tanque experimental de 10 m<sup>3</sup> contendo Bioflocos com aeração contínua. O biofoco foi obtido de um tanque matriz. Após equilíbrio e formação dos flocos bacterianos, se deu início ao experimento; (2) Tanque escavado (TANK) - um tanque escavado (4x5m com 1,0m de altura – 20m<sup>3</sup>) lonado com aeração constante e exposto as condições naturais da estação; sem troca constante de água (3) RAS - um tanque experimental de 10 m<sup>3</sup>, provido de sistema de recirculação de água composto por filtro mecânico e biológico (Bioballs), com aeração constante. Os sistemas BFT e RAS foram montados no interior de uma estufa agrícola (7x21m) protegidos de chuva e com tela tipo sombrite (50% de proteção do sol). Para os três sistemas os animais foram alimentados duas vezes ao dia (8 e 16h) com ração comercial (36% de PB e 2,6mm – Laguna, Socil®) com composição nutricional sendo: Proteína 360 g/kg; Extrato Etéreo - min 80 g/kg; Fibra Bruta 40 g/kg; Matéria Mineral 150 g/kg; Cálcio - mín. 20 g/kg; Cálcio - máx. 30 g/kg; Fósforo - mín. 10 g/kg; Umidade 100 g/kg; Vitamina C 600 mg/kg. Os animais foram alimentados até a saciedade aparente. A alimentação foi pesada diariamente para aferir a quantidade consumida por cada tratamento.

As avaliações reprodutivas dos animais foram realizadas após 45 dias de criação para todos os sistemas propostos. Assim, foi feita a retirada completa das hapas de cada tratamento, e os animais foram transportados até o laboratório para realização da coleta dos dados reprodutivos (Figura 1).

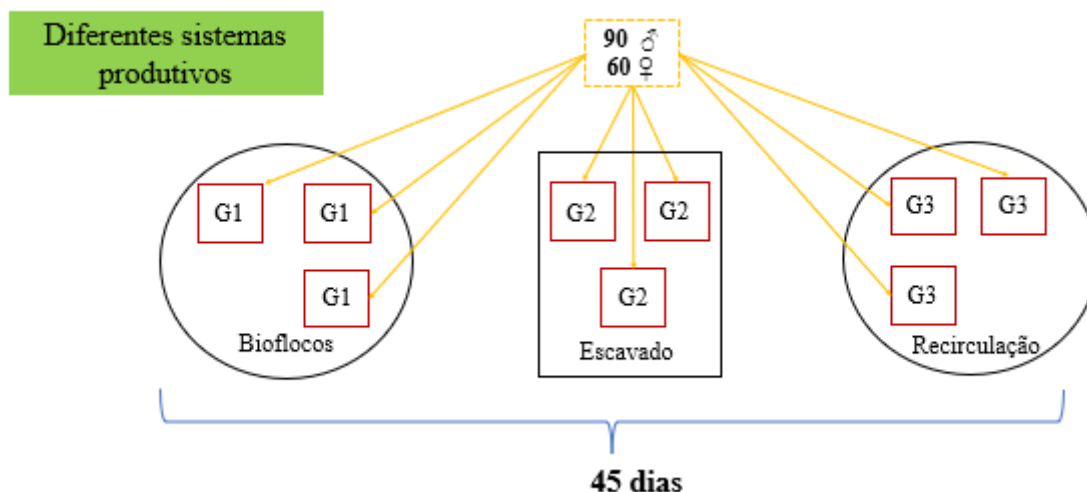


Figura 1. Croqui do delineamento experimental em cada tratamento: BFT: Tecnologia de Bioflocos (G1 = repetições); TANK: Tanque escavado lonado (G2 = repetições); RAS: Sistema de recirculação (G3 = repetições).

### 2.2. Indução hormonal

Todos os animais foram submetidos a indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC). Para o preparo da solução do EBHC, as hipófises foram diluídas em soro fisiológico (2 mL/kg). As fêmeas selecionadas receberam duas dosagens hormonais de forma intramuscular na base da nadadeira peitoral. A primeira dose preparatória de 0,5 mg de EBHC/Kg de peso vivo e após doze horas, a dosagem final de 5,0 mg EBHC/Kg de peso vivo conforme proposto por Abreu et al. (2021). Os machos selecionados receberam uma única dose de 2,5 mg de EBHC/kg, duas horas antes da segunda dosagem das fêmeas, fazendo com que a coleta dos gametas masculinos ocorra antes dos ovócitos, com o objetivo de minimizar a perda da viabilidade dos ovócitos após a coleta (Sanches et al., 2011).

### 2.3. Extrusão

Após 180 horas-grau da indução hormonal, realizou-se a extrusão dos machos e fêmeas de forma manual separadamente e individualmente por peixe, para isso, os animais foram sedados com imersão em água contendo eugenol (50mg/L).

#### 2.3.1. Machos

Para a coleta do sêmen, foram utilizados 20 machos de cada hapa (Figura 2), assim, os machos foram sedados por imersão em eugenol a 50mg/L e em seguida a papila urogenital e a superfície dos animais foram limpas e secas com papel toalha. Posteriormente, foram realizadas massagens manuais delicadas sobre a região abdominal no sentido encéfalo-caudal. O sêmen

foi coletado com o auxílio de uma pipeta volumétrica (0,5 a 10,0  $\mu\text{L}$ ), e acondicionado em um Tubo tipo Eppendorf (1,5 mL) contendo 20  $\mu\text{L}$  de solução salina balanceada de Hank's (INLAB LTDA) na concentração de  $9,5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (diluidor), afim de evitar possíveis contaminações com urina e água conforme metodologia adaptada de Yasui et al. (2015). Em seguida, o sêmen coletado foi estocado em caixas de isopor contendo gelo até o momento das análises espermáticas (Sanches et al., 2013).

Os parâmetros espermáticos foram avaliados pelo método computadorizado, utilizando um software de código aberto ImageJ (Wilson-Leedy and Ingermann, 2007). Para realização desse método o sêmen foi ativado utilizando água destilada, e os vídeos foram gravados com auxílio de uma câmera Basler acA640-120gc (<http://www.baslerweb.com>). Para tal, o sêmen ativado foi alocado em uma câmara de Neubauer espelhada (0,1mm de profundidade) e rapidamente a um microscópio de luz trinocular (SolaristBel) em objetiva 10x, conectado ao computador (CPU Intel (R) Core (TM) i5-10210U @ 1,60 GHz, 2,11 GHz, 8 GB de Ram) com sistema operacional Microsoft Windows 11 ©. As análises foram realizadas de acordo com o procedimento recomendado por Sanches et al. (2010; 2013), em 10s e 30s pós ativação em 1s de vídeo (100 frames) por meio do software livre ImageJ/plugin CASA. Os parâmetros avaliados foram: percentual de motilidade espermática (MOT), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média de deslocamento (VAP), velocidade em linha reta (VSL), retilinearidade (STR), oscilação (WOB), progressão (PROG) e frequência do batimento transversal (BCF). As configurações utilizadas no programa para avaliação foram adaptadas de Sanches et al. (2013) e Pinheiro et al. (2022), sendo elas: a=1, b=60, c=50, d=8, e=1, f=6, g=15, h=15, i=1, j=25, k=15, l=25, m=80, n=80, o=50, p=60, q=100, r=561,7978, s=0, t=0, u=0.

Para mensuração da concentração espermática foram utilizadas 1  $\mu\text{L}$  do sêmen (coletado diretamente da papila urogenital sem adição de diluidor) em 2.000  $\mu\text{L}$  de formol salino tamponado. A concentração espermática foi estimada com base na contagem de células em câmara hematómica de Neubauer conforme Mylonas et al. (1997) e Sanches et al. (2011).

A análise de integridade da membrana dos espermatozoides foi realizada pelo método de coloração eosina-nigrosina, utilizando-se 1 $\mu\text{L}$  de sêmen, 5 $\mu\text{L}$  de eosina amarela (3%) e 5 $\mu\text{L}$  de nigrosina (5%). Após o processamento das lâminas, três áreas com 200 espermatozoides foram analisadas em microscópio de luz (obj. 60 $\times$ ) (Sanches et al., 2009), sendo considerados mortos os espermatozoides corados e vivos os incolores.



Figura 2. Processo para coleta do sêmen de machos de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos.

### 2.3.2. Fêmeas

Para fertilização à seco foram utilizadas 10 fêmeas de cada hapa, totalizando 30 fêmeas de cada tratamento (Figura 3). Para seleção das fêmeas foi verificado de forma visual o abaloamento do abdômen juntamente com a colocação da papila urogenital.

Para fertilização à seco utilizamos 10 fêmeas, que foram selecionadas observando o abaulamento do abdômen. Após indução hormonal, os animais passaram pelo processo de extrusão manual mediante a pressão abdominal, realizada por massagem no sentido céfalo-caudal. Após a coleta realizou-se a pesagem individual dos oócitos (balança de  $\pm 0,01$ g), e em seguida duas alíquotas de 0,1 g foram pesadas, uma foi fixada em formol 10% para posterior contagem e cálculos de produtividade por fêmea e a outra utilizada para a fertilização, aos qual foi realizada mediante a adição de 20µL de um pool de sêmen oriundo do mesmo tratamento (Pereira-Santos et al., 2017). Após a fertilização e hidratação dos ovos com 5 ml de água do sistema, eles foram transferidos para incubadoras individuais (peneiras plásticas com telas de 0,5mm de espessura). Os percentuais de ovos fertilizados foram contabilizados após o fechamento do blastóporo. Nessa avaliação, foram considerados ovos gorados aqueles que apresentarem colocação esbranquiçada e quanto os ovos viáveis, aqueles que apresentaram colocação translúcida.



Figura 3. Processo realizado na fertilização à seco de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos.

#### 2.4. Desova seminatural

Os animais do grupo semi-natural, foram alocados em caixas plásticas retangulares contendo 30L de volume útil na proporção de 1:1,5 (femêa:macho), sendo oito machos e cinco fêmeas por caixa. Cada tratamento contou com seis repetições. A caixa contou com uma tela de proteção para separar os reprodutores dos ovos, afim de evitar a predação do mesmo. Após a fertilização dos ovos, os mesmos foram coletados para realizar a medição do volume de ovos. Os ovos foram alocados separadamente em incubadoras cônicas de 2,0L até a eclosão (Figura 4).



Figura 4. Processo realizado na desova seminatural de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos.

## 2.5. Análise Estatística

Todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância de um fator (*one-way* ANOVA) a 5% de significância. Em decorrência de efeito significativo, foi aplicado a análise de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível. Os pressupostos de homogeneidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (teste de Levene) foram checados. Em caso de dados não paramétricos, foi realizado teste de comparação de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Qualidade de água

A temperatura da água de cada sistema foi aferida diariamente (Figura 5), observou-se as variações no decorrer do experimento, com médias de  $23,51 \pm 2,73^\circ\text{C}$ ,  $26,29 \pm 2,86^\circ\text{C}$  e  $23,68 \pm 2,67^\circ\text{C}$ , para BFT, TANK e RAS, respectivamente.

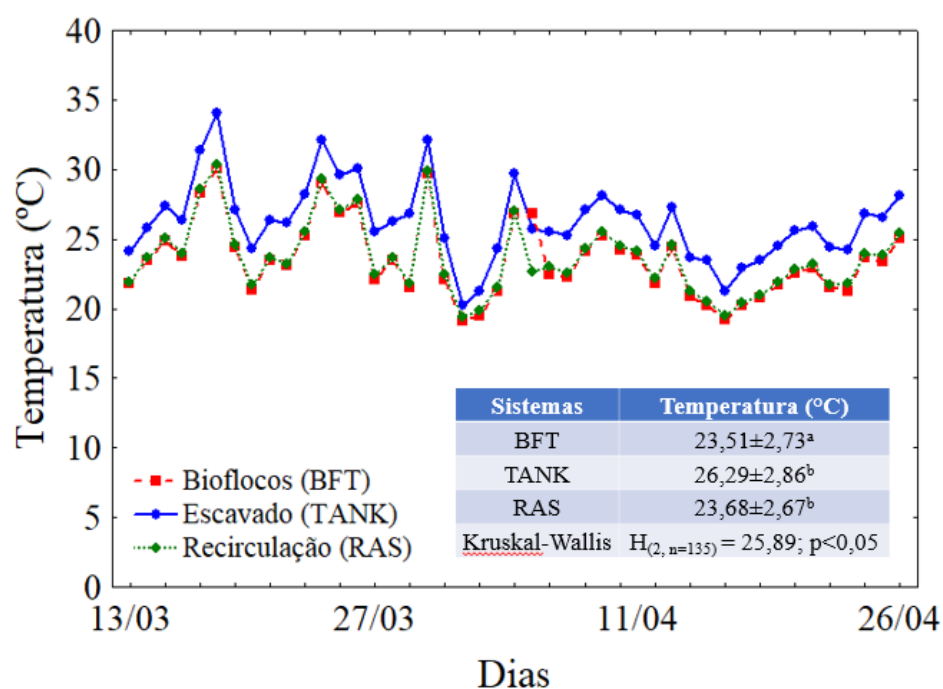


Figura 5. Variação de temperatura ao decorrer do experimento nos diferentes sistemas produtivos. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para os parâmetros de qualidade de água (Tabela 1), observou-se que o oxigênio dissolvido (O.D), não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos TANK e RAS, mas apresentaram diferença quando comparados ao tratamento BFT. Para condutividade elétrica (C.E.) todos os tratamentos apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, sendo  $\text{BFT} > \text{TANK} > \text{RAS}$ .

O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro pH. Para a variável NH<sub>3</sub>N, observamos que o tratamento BFT apresentou o menor valor, enquanto o tratamento TANK apresentou maior valor. Para NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, foi observado que o tratamento BFT foi significativamente menor (P<0,05) comparado aos tratamentos TANK e RAS, os quais não diferiram entre si (p>0,05).

Tabela 1. Qualidade de água (média ± desvio padrão) dos sistemas produtivos mantendo reprodutores de *Astyanax lacustris*.

Sistemas	O.D (mg/l)	C.E (uS/cm <sup>2</sup> )	pH	NH <sub>3</sub> N	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
<b>BFT</b>	5,62±0,61 <sup>a</sup>	401,05±8,56 <sup>a</sup>	7,60±0,15 <sup>a</sup>	0,20±0,18 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup>
<b>TANK</b>	7,71±0,60 <sup>b</sup>	258,47±10,26 <sup>b</sup>	7,33±0,07 <sup>b</sup>	1,46±0,33 <sup>a</sup>	4,0±1,67 <sup>b</sup>
<b>RAS</b>	7,00±0,52 <sup>b</sup>	171,68±19,33 <sup>c</sup>	7,07±0,07 <sup>c</sup>	0,57±0,17 <sup>b</sup>	3,0±0,89 <sup>b</sup>
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, 15)</sub> =20,17 p<0,05	F <sub>(2, 15)</sub> =437,37 p<0,05	F <sub>(2, 15)</sub> =37,02 p<0,05	F <sub>(2, 15)</sub> =44,83 p<0,05	F <sub>(2, 15)</sub> =21,67 p<0,05

Letras diferentes nas barras indicam diferença (P<0,05) de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). O.D: oxigênio dissolvido (mg/l); C.E: condutividade elétrica (uS/cm<sup>2</sup>); pH: potencial hidrogênio; NH<sub>3</sub>N: nitrogênio de amônia (mg/l); NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: Nitrito (mg/l). Tratamentos: BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação.

### 3.2. Parâmetros Zootécnicos

Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros zootécnicos avaliados (Tabela 2). O parâmetro sobrevivência observamos que os tratamentos BFT e RAS não diferiram (p>0,05) entre si, entretanto foram diferentes (p<0,05) em relação ao tratamento TANK.

Tabela 2. Consumo de ração e parâmetros zootécnicos (média ± desvio padrão) de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos.

Tratamentos	CRT (g)	CRM (g)	GP (g)	CAA	SOB (%)
<b>BFT</b>	994,33±125,47	6,78±0,81	2,37±1,46	4,34±3,63	97,78±1,02 <sup>a</sup>
<b>TANK</b>	852,77±122,07	6,05±0,83	1,53±1,08	5,73±4,33	94,00±0,67 <sup>b</sup>
<b>RAS</b>	1043,67±208,16	7,07±1,34	1,95±1,47	4,72±2,35	98,22±1,02 <sup>a</sup>
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, 6)</sub> =1,20 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,81, p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,29 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,12 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =19,24 p<0,05

Letras diferentes nas barras indicam diferença (P<0,05) de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). Consumo de ração: CRT: consumo de ração total (g) e Parâmetros zootécnicos: CRM – consumo de ração médio por peixe em 45 dias; GP: ganho de peso (g); CAA: conversão alimentar aparente; SOB: Sobrevivência (%). Tratamentos: BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação.

### 3.3. Machos

Não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos para todos os parâmetros espermáticos (Tabela 3) avaliados pelo software CASA em 10 segundos pós-ativação espermática.

Tabela 3. Parâmetros espermáticos (média  $\pm$  desvio padrão) em 10 segundos pós ativação de machos de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos.

Parâmetros espermáticos								
Sistemas	MOT (%)	STR (%)	VCL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VAP ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VSL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	WOB (%)	PROG ( $\mu\text{m}$ )	BCF (Hz)
<b>BFT</b>	60,63 $\pm$ 15,14	95,97 $\pm$ 0,26	65,59 $\pm$ 4,93	45,38 $\pm$ 5,88	43,59 $\pm$ 5,53	68,80 $\pm$ 4,68	1560,70 $\pm$ 142,09	50,48 $\pm$ 2,28
<b>TANK</b>	51,82 $\pm$ 14,14	95,64 $\pm$ 0,76	66,73 $\pm$ 4,00	46,57 $\pm$ 5,59	44,69 $\pm$ 5,72	69,17 $\pm$ 4,22	1568,91 $\pm$ 196,43	49,67 $\pm$ 1,80
<b>RAS</b>	57,04 $\pm$ 9,30	93,57 $\pm$ 1,56	63,54 $\pm$ 6,28	48,12 $\pm$ 13,82	46,17 $\pm$ 13,43	67,83 $\pm$ 4,13	1543,26 $\pm$ 331,99	47,29 $\pm$ 5,03
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, 6)</sub> =0,34 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =4,93 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,29 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,07 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,06 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,08 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,01 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,73 p>0,05

( $P>0,05$ ) indica que não houve diferenças significativas de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). Sistemas BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação; Parâmetros espermáticos MOT: taxa de motilidade; STR: retilinearidade; VCL: Velocidade curvilinear; VAP: Velocidade média da trajetória; VSL: Velocidade em linha reta; WOB: Oscilação; PROG: Progressão; BCF: Frequência do batimento transversal.

Não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 4) para todos os parâmetros espermáticos avaliados pelo software CASA em 30 segundos pós-ativação espermática.

Tabela 4. Parâmetros espermáticos (média  $\pm$  desvio padrão) em 30 segundos pós ativação de machos de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos.

Sistemas	MOT (%)	STR (%)	VCL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VAP ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	VSL ( $\mu\text{m s}^{-1}$ )	WOB (%)	PROG ( $\mu\text{m}$ )	BCF (Hz)
<b>BFT</b>	9,86 $\pm$ 2,58	38,05 $\pm$ 4,82	21,59 $\pm$ 1,10	20,49 $\pm$ 0,95	85,95 $\pm$ 5,71	52,88 $\pm$ 1,55	793,40 $\pm$ 22,01	50,04 $\pm$ 3,42
<b>TANK</b>	7,67 $\pm$ 3,87	39,05 $\pm$ 2,89	21,47 $\pm$ 1,93	20,33 $\pm$ 2,04	85,76 $\pm$ 6,70	51,84 $\pm$ 3,27	759,95 $\pm$ 66,48	49,66 $\pm$ 3,28
<b>RAS</b>	8,90 $\pm$ 6,95	39,49 $\pm$ 5,30	22,11 $\pm$ 3,13	20,82 $\pm$ 3,47	85,57 $\pm$ 4,09	52,83 $\pm$ 5,40	776,49 $\pm$ 103,40	48,95 $\pm$ 7,03
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, 6)</sub> =0,16 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,08 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,07 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,03 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,001 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,07 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,16 p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =0,04 p>0,05

( $P>0,05$ ) indica que não houve diferenças significativas de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). BFT: tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação; MOT: taxa de motilidade; STR: retilinearidade; VCL: Velocidade curvilinear; VAP: Velocidade média da trajetória; VSL: Velocidade em linha reta; WOB: Oscilação; PROG: Progressão; BCF: Frequência do batimento transversal.

Tabela 5. Integridade da membrana e concentração espermática (média±desvio padrão) de machos de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos.

<b>Tratamentos</b>	<b>Integridade da membrana</b>	<b>Concentração espermática</b> ( $\times 10^{10}$ espermatozoides <sup>-1</sup> /ml)
<b>BFT</b>	93,38±1,95	1,23±0,094
<b>TANK</b>	92,89±1,08	1,39±0,41
<b>RAS</b>	93,93±2,59	1,02±0,67
<b>p-valor</b>	F <sub>(2, 6)</sub> =0,21; p>0,05	F <sub>(2, 6)</sub> =1,65; p>0,05

(P>0,05) indica que não houve diferenças significativas de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação.

Para os parâmetros espermáticos integridade da membrana e concentração espermática, não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) entre os tratamentos (Tabela 5).

#### 3.4. Fêmeas

Podemos observar que para peso de oócitos (Figura 6A) o tratamento BFT apresentou maior valor (p<0,05) em relação ao tratamento RAS, sendo ambos semelhantes (p>0,05) ao tratamento TANK.

Para fecundidade absoluta (Figura 6B) observamos que os sistemas apresentaram diferença significativa entre si (p<0,05). Sendo assim, BFT apresentou valor maior que TANK, que por sua vez, foi maior que o sistema RAS. Para fecundidade relativa (figura 6C) não foram observadas diferenças significativas (p>0,05).

Podemos observar que, em relação aos dados de fertilização dos oócitos (Figura 7A) que foram extrusados, o tratamento BFT foi estatisticamente maior (p<0,05) quando comparado aos tratamentos TANK e RAS, sendo estes semelhantes entre si (p>0,05). Na Figura 7B, podemos observar os dados separados em classes, onde para os tratamentos TANK e RAS observamos maior número de animais nas classes de 0-10 e de 10-20%.

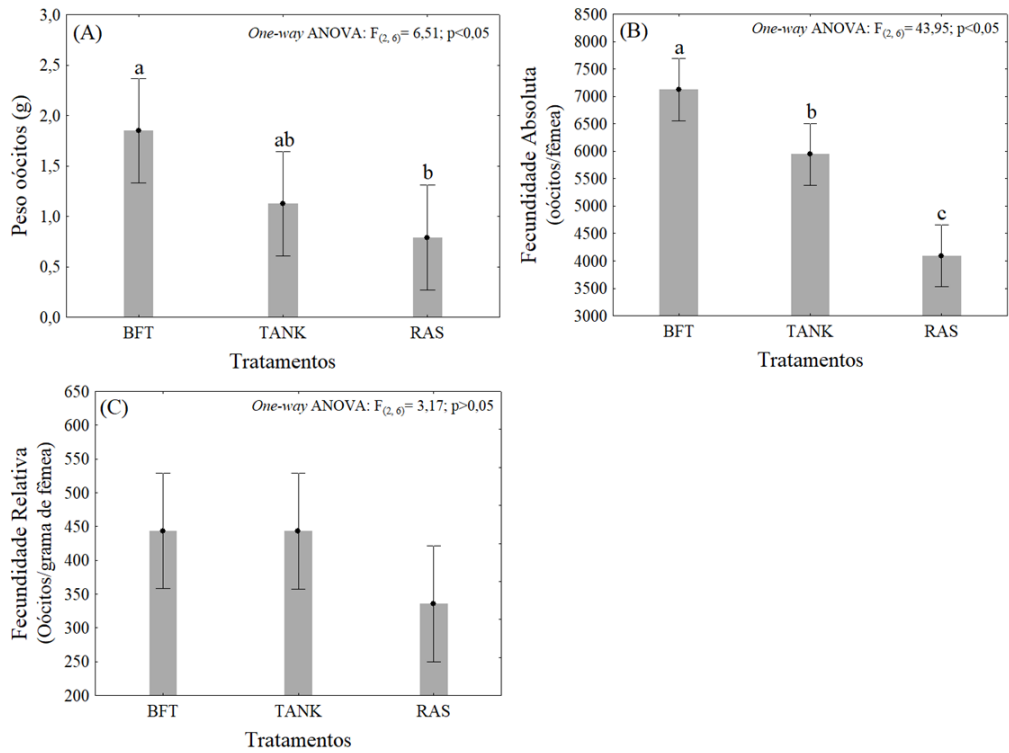


Figura 6. Produção de oócitos de *Astyanax lacustris* mantidos durante 45 dias em diferentes sistemas produtivos. (A) peso oócitos (g); (B) Fecundidade absoluta (oócitos/fêmeas); (C) Fecundidade relativa (oócitos/grama de fêmea). Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey. Tratamentos: BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado lonado; RAS: Sistema de recirculação.

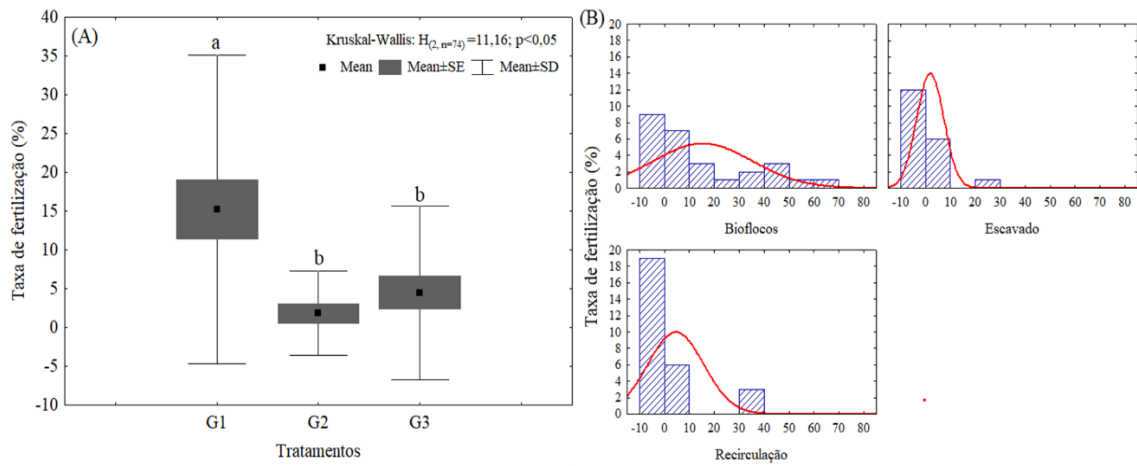


Figura 7. Taxa de fertilização de *Astyanax lacustris* mantidos em diferentes sistemas produtivos submetidos a fertilização à seco. Letras diferentes nas barras indicam diferença ( $P < 0,05$ ) de acordo a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. BFT: tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação.

### 3.5. *Desova seminatural*

Em relação aos dados produtivos (Figura 8A e 8B), observamos que os tratamentos BFT e TANK não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ), entretanto o tratamento RAS se mostrou menor em relação ao tratamento BFT. Nos dados de taxa de fertilização podemos observar o mesmo comportamento visto anteriormente.

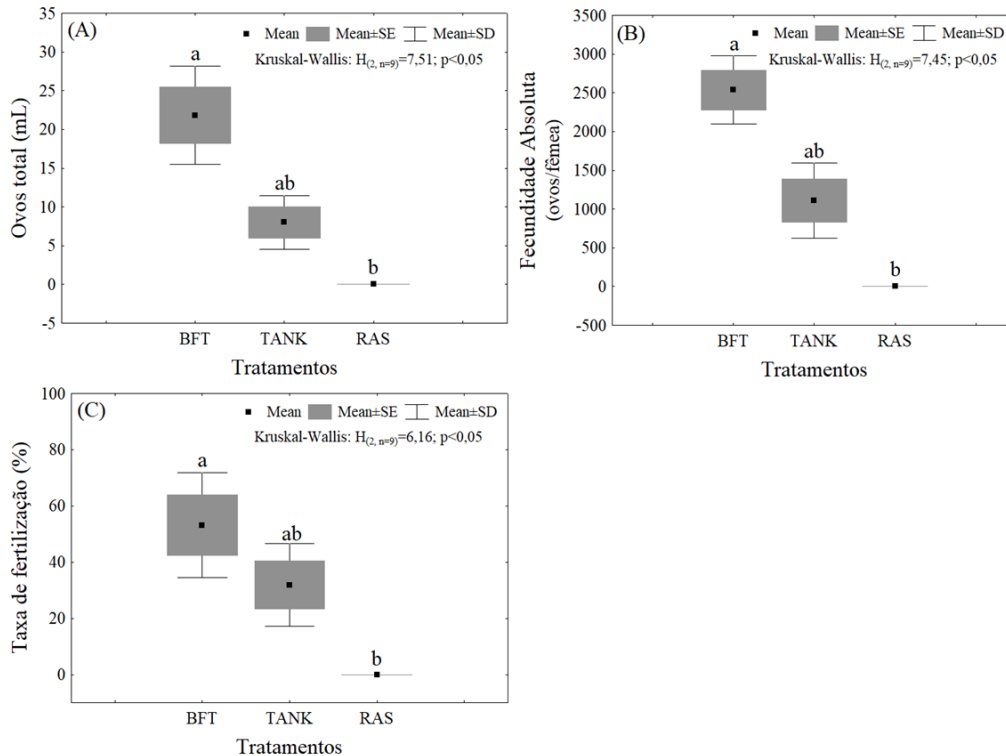


Figura 8. Dados produtivos de *Astyanax lacustris* submetidos a reprodução semi-natural. Letras diferentes nas barras indicam diferença ( $p < 0,05$ ) de acordo a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. BFT: Tecnologia de bioflocos; TANK: Tanque escavado; RAS: Sistema de recirculação. (A) volume total de ovos. (B) Fecundidade Absoluta. (C) Taxas de fertilização.

## 4. DISCUSSÃO

No presente estudo, os peixes mantidos em BFT apresentaram melhores resultados quanto aos parâmetros reprodutivos das fêmeas e comportamento semelhante já foram evidenciados em outras espécies, tais como em estudos realizados com tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em que foi observado que os reprodutores mantidos em tanques de bioflocos produziram maior número de ovos e larvas 65% maior em relação aos reprodutores mantidos em tanques sem BFT (Ekasari et al., 2013). Ekasari et al. (2015), sugerem que o aumento do desempenho reprodutivo da tilápia-do-nilo, é resultado de um efeito nutricional positivo e melhora na qualidade da água que o sistema

BFT proporcionou. Para reprodutores de *Clarias gariepinus* mantidos em tecnologia de bioflocos, Ekasari et al. (2016) observaram que os animais não apresentaram aumento da fecundidade e qualidade de ovos, quando comparado ao sistema controle (sem adição de carbono), entretanto, a taxa de desenvolvimento embrionário e qualidade larval melhorou significativamente. Apesar do baixo desempenho observado nesse estudo para o tratamento RAS, pesquisas realizadas por Lira et al., (2018), mostram a viabilidade da reprodução de *A. lacustris* em sistema de recirculação, onde os autores observaram a ocorrência de desovas de fêmeas a cada 6 dias. Jatobá and Silva (2015), observaram resultados satisfatórios em índices reprodutivos de juvenis de *A. bimaculatus* e *A. scabripinnis* estocados em sistema de recirculação em uma densidade de até 0,75 peixes.L<sup>-1</sup>.

Estudos com sêmen fresco de *A. lacustris*, apresentaram valores de 51,1 µm/s para VCL, 41,4 µm/s para VSL e 48,2 µm/s para VAP (Rodríguez-Ballesteros et al., 2022). Já Lázaro et al., (2021) observou para *A. lacustris* valores de VCL de 65,34±11,64, VAP de 50,12±9,87 e VSL de 46,30±11,70. Para motilidade espermática Carneiro-Leite et al., (2020), verificou uma motilidade de 76,6±11,2% para sêmen fresco. Lázaro et al., (2021), encontrou para machos diploides normais, valores de motilidade de 91,50±2,90. Já Gonçalves et al., (2018), encontrou para motilidade um valor de 72,9±0,004%. Para os parâmetros de velocidade, podemos observar que os valores encontrados nesses estudos se assimilam aos encontrados no presente estudo. Tendo em vista que para os parâmetros espermáticos foram semelhantes, acreditamos que o tratamento com BFT não interferiu na qualidade seminal dos machos de *A. lacustris*, tal comportamento pode estar associado a um fator que acometeu todos os tratamentos.

Geraldi (2006), realizando estudos avaliando a qualidade da água em bioflocos de troca zero, observou que o sistema continha baixas concentrações de amônia, o que segundo o autor, é resultado da síntese de novas células por bactérias heterotróficas e autotróficas. A tecnologia de bioflocos (BFT) é conhecida por diminuir o acúmulo de nitrogênio (NH<sub>3</sub>), devida a utilização deste composto pelas bactérias, resultando na formação de flocos microbianos (Avnimelech et al.,1994; Mc Intosh, 2000). Esses estudos corroboram com o que observamos no experimento, onde observamos que as concentrações de NH<sub>3</sub> foram menores no tratamento contendo BFT.

Segundo Yasui et al., (2020), os picos de desova de *A. lacustris*, se encontram durante os períodos mais quentes e chuvoso do ano, meses esses que, podem se estender de setembro a março, dependendo da variação climática do ano. Nesse estudo,

observamos que o TANK apresentou maior temperatura durante o período experimental, já os sistemas BFT e RAS não diferiram entre si. Tal comportamento está associado ao nível de exposição de cada sistema, tendo em vista que o TANK ficou totalmente exposto ao ambiente externo. Os tratamentos BFT e RAS permaneceram durante todo o experimento sob proteção de uma estufa agrícola e de sombrite, assim a intensidade do sol em contato com a coluna da água foi menor quando comparado ao sistema TANK. Assim, essa variação de temperatura pode ter influenciado no desenvolvimento gonadal tendo em vista que a temperatura ideal para a espécie se encontra entre 26 a 28°C (Yasui et al., 2020)

Outro fator de importância em sistema BFT é o oxigênio dissolvido (O.D), uma vez que devido a presença dos flocos contendo altas cargas de bactérias e outros micro organismos, requer maior necessidade e consumo de O.D, o que pode ter resultado em concentração menor que as dos outros tratamentos. Ekasari and Maryam (2012) trabalhando tilápia vermelha em sistemas BFT, obtiveram resultados semelhantes ao encontrado por El-Sayed (2006), que durante seu estudo observou que o O.D se manteve acima de 5,9 mg/L. Após análise dos parâmetros de qualidade de água verificamos que os mesmos se encontram dentro do recomendado por Jatobá and Silva (2015), somente o parâmetro condutividade elétrica se mostrou diferente do encontrado na literatura. Rafiee and Saad, (2005), observaram que altos valores de condutividade elétrica podem ocorrer em sistemas de recirculação devido ao acúmulo de íons devido à falta de troca de água e mineralização dos resíduos de ração e excretas de peixes. Apesar dos autores observarem altos níveis de condutividade elétrica, nesse estudo observamos que entre os tratamentos o RAS apresentou os menores valores de C.E em comparação com os demais tratamentos.

O princípio básico da tecnologia de Bioflocos (BFT), é a retenção de resíduos e sua conversão em flocos (Audelo-Naranjo et al., 2012), sendo assim, o sistema tem necessidade de constante agitação da coluna da água, ou seja, aeração constante (Crab et al., 2012). Algumas espécies de peixes e/ou crustáceos mantidos nesse tipo de sistema, conseguem realizar aproveitamento desses flocos como alimento natural (Hargreaves, 2006), substituindo parcialmente a ração formulada (Tacon et al., 2002; Schryver et al., 2008), sem afetar o crescimento e desenvolvimento do animal (Anand et al., 2014), tendo em vista que os flocos bacterianos possuem um alto teor de proteína, podendo atuar como uma fonte adicional de alimento, que pode ser consumido diretamente sem necessitar de processamento prévio (Burford et al., 2003). Tal prática é economicamente e ecologicamente atrativa para o produtor e consumidor, uma vez que a partir dela é

possível produção aquícola saudável, de alta qualidade e com menor custo de produção (Watanabe, 2002). Jatobá, et al., (2014), verificaram que com abundância de alimentos naturais no sistema de cultivo, como o bioflocos, podemos conseguir reduzir a concentração de proteína na dieta artificial. No presente experimento não observamos diferenças significativas para consumo de ração e parâmetros zootécnicos entre os tratamentos, assim não podemos concluir que a tecnologia de bioflocos influenciou na alimentação e/ou crescimento dos animais durante o período de 45 dias.

## 5. CONCLUSÃO

Sendo assim, verificamos que é possível manter reprodutores de *Astyanax lacustris* em sistema BFT, já que os animais apresentam melhor desempenho reprodutivo no quesito produção e qualidade de ovos quando comparado ao TANK e ao RAS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, M.R., Silva, L.M. de J., Figueiredo-Ariki, D.G., Sato, R.T., Kuradomi, R.Y., Batlouni, S.R., 2021. Reproductive performance of lambari (*Astyanax altiparanae*) in a seminatural system using different protocols. *Aquaculture Research* 52(2), 471-483. <https://doi.org/10.1111/are.14905>

Adamov, N.S.M., Nascimento, N.F., Maciel, E.C.S., Pereira-Santos, M., Senhorini, J.A., Calado, L.L., Machado-Evangelista, M., Nakaghi, L.S.O., Guerrero, A.H.M., Fujimoto, T., Yasui, G.S., 2016. Triploid Induction in the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, Using Temperature Shock: Tools for Conservation and Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(5), 741– 750. <http://dx.doi.org/10.1111/jwas.12390>

Adineh, H., Naderi, M., Hamidia, M.K., Harsij, M., 2019. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. *Fish and Shellfish Immunology* 95, 440–448. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.057>

Alvarenga, E.R., Sales, S.C.M., Brito, T.S., Santos, C.R., Corrêa, R.D.S., Alves, G.F. de O., Manduca, L.G., Turra, E. M., 2017. Effects of biofloc technology on reproduction and ovarian recrudescence in Nile tilapia. *Aquaculture Research* 48(12), 1-8. <https://doi.org/10.1111/are.13420>

Anand, P.S.S., Kohli, M.P.S., Kumar, S., Sundaray, J.K., Dam Roy, S., Venkateshwarlu, G., Sinha, A., Pailan, G.H., 2014. Effect of dietary supplementation of

biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 418-419, 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.051>

Audelo–Naranjo, J.M., Martínez–Córdova, L.R., Gómez–Jiménez, S., Voltolina, D., 2012. Intensive culture of *Litopenaeus vannamei* without water exchange and with an artificial substrate. *Hidrobiológica* 22:1–7.

Avnimelech Y., 2012. *Biofloc Technology: a practical guide book*. The World Aquaculture Society p. 271.

Avnimelech, Y., Weber, B., Millstien, A., Hephher, B., Zoran, M., 1986. Studies in circulated fishponds: organic matter recycling and nitrogen transformation. *Aquaculture and Fisheries Management* 17, 231–242.

Azim, M.E., Little, D.C., 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283, 29–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1986.tb00109.x>

Barbosa, P.T.L., Pereira, G.R., Porto, E.P.J., Pires, T.B., 2015. Sistema de Produção de Pintado Amazônico: Caracterização das variáveis físicas e químicas da água e do sedimento. *Enciclopédia Biosfera* 11, 736.

Battistia, E.K., Rabaioli, A., Uczayc, J., Sutilid, F.J., Lazzaric, R., 2020. Effect of stocking density on growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant status of silver catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system. *Aquaculture* 524, 735213. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735213>

Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M.R.M., Sanches, E.A., Piana, P.A., 2010. Digestible energy level on reproductive and zootechnical performance and lipids deposition in hepatocytes of the Nile tilapia males. *Revista Brasileira De Zootecnia* 39(5), 941-949. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000500001>

Branco, G.S., Melo, A.G., Ricci, J.M.B., Digmayer, M., Jesus, L.W.O., Habibi, H.R., Nóbrega, R.H., 2019. Effects of GnRH and the dual regulatory actions of GnIH in the pituitary explants and brain slices of *Astyanax altiparanae* males. *General and Comparative Endocrinology* 273(1), 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.08.006>

Burford, M.A., Thompson, P.J., Mcintosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393-411. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00575-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00575-6)

Carneiro-Leite, L., Bashiyo-Silva, C., Oliveira, Y.A.A., Borges, L.P., Sanchez, M.P., Silva, L.G. da., Lobato, S.I.R., Rodrigues-Lisoni, F.C., Veríssimo-Silveira, R.,

Ninhaus-Silveira, A., 2020. Seminal characteristics and sensitivity of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) sperm to cryoprotective solutions based on dimethylsulfoxide and methylglycol. *Neotropical Ichthyology* 18(3): e200039. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0039>

Cassel, M., Chehade, C., Branco, G.S., Caneppele, D., Romagosa, E., Borella, M.I., 2017. Ovarian development and the reproductive profile of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) over one year: Applications in fish farming. *Theriogenology* 98, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.044>

Chen, X., Luo, G., Tana, J., Tana, H., Yao, M., 2020. Effects of carbohydrate supply strategies and biofloc concentrations on the growth performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in biofloc systems. *Aquaculture* 517, 734808. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734808>

Costa, F., Adolphi, 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. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2014.02.004>

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356– 357:351–356. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A., Yuji, S.R., Borghesi, R., Dairiki, J.K.A., 2010. Piscicultura e o ambiente o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 68 87. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300009>

Deng, M., Chen, J., Gou, J., Hou, J., Li, D., He, X., 2018. The effect of different carbon sources on water quality, microbial community and structure of biofloc systems. *Aquaculture* 482, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.030>

Edwards, P., 2015. Aquaculture environment interactions: past, present and likely future trends. *Aquaculture* 447(1), 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.001>

Ekasari J., Suprayudi, M.A., Wiyoto, W., Hazanah, R.F., Lenggara, G.S., Sulistiani, R., Alkahfi, M., Zairin Jr., M., 2016. Biofloc technology application in African catfish fingerling production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. *Aquaculture* 464, 349–356. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.013>

Ekasari, J., Maryam, S., 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. HAYATI Journal of Biosciences 19 (2), 73–80. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>

Ekasari, J., Zairin Jr., M., Putri, D.U., Sari, N.P., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., 2013. Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. brood fish. Aquaculture Research 46(2), 509-512. <https://doi.org/10.1111/are.12185>

Ekasari, J., Rivandi, D.R., Firdausi, A.P., Surawidjaja, E.H., Zairin, M., Bossier, P., Schryver, P. de., 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture 441, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>

El-Sayed, E.M., 2006. Tilapia Culture. CABI Publishing, Cambridge Massachusetts, USA, 275 p.

FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

Fernandes, K., Gomes, A., Calado, L., Yasui, G., Assis, D., Henry, T., Fonseca, A., Pinto, E., 2019. Toxicity of Cyanopeptides from Two Microcystis Strains on Larval Development of *Astyanax altiparanae*. Toxins 11(4): 220. <https://doi.org/10.3390/toxins11040220>

Fonseca, T., Costa-Pierce, B.A., Valenti, W.C., 2017. Lambari Aquaculture as a Means for the Sustainable Development of Rural Communities in Brazil. Reviews in fisheries science & aquaculture 25(4), 316–330. <https://doi.org/10.1080/23308249.2017.1320647>

Gerardi, M.H., 2006. Wastewater Bacteria. John Wiley & Sons Inc., New Jersey. <http://dx.doi.org/10.1002/0471979910>

Gonçalves, B.B., Nascimento, N.F., Santos, M.P., Bertolini, R.M., Yasui, G.S., Giaquinto, P.C., 2018. Low concentrations of glyphosate-based herbicide cause complete loss of sperm motility of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris*. Journal of Fish Biology 92, 1218–1224. <https://doi.org/10.1111/jfb.13571>

Hargreaves, J.A., 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquacultural Engineering 34, 344–363. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.009>

Jatobá, A., Silva, B.C., 2015. Densidade de estocagem na produção de juvenis de duas espécies de lambaris em sistema de recirculação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 67(5): 1469-1474. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8080>

Jatobá, A., Silva, B.C., Silva, J.S., Vieira, F.N., Mourino, J.L.P., Seiffert, W.Q., Toledo, T.M., 2014. Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semiintensive and biofloc systems. *Aquaculture* 432, 365-371. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.005>

Lázaro, T.M., Rocha, N.R.A., Monzani, P.S., Nakaghi, L.S.O., Senhorini, J.A., Yasui, G.S., Nascimento, N.F., 2021. Sperm quality of spontaneously occurring gynogenetic males in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. *Journal of Applied Ichthyology* 37, 909–915. <https://doi.org/10.1111/jai.14244>

Lima, E.C.R., Souza, R.L., Girao, P.J.M., Braga, I.F.M., Correia, E. DE S., 2018. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of. *Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. Revista Ciência Agrônômica* 49(3), 458-466. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180052>

Lira, L.G.V., Kuradomi, R.Y., Souza, T.G., hainfellner, P., Batlouni, S.R., 2018. *Astyanax altiparanae* Ovarian maturation after spawning in water recycling systems. *Boletim do Instituto de Pesca* 44(4): 207. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2018.44.4.207>

Lucena, C.A.S.D., Soares, H.G., 2016. Review of species of the *Astyanax bimaculatus* “caudal peduncle spot” subgroup sensu Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio La Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. *Zootaxa* 4072(1), 101–125. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4072.1.5>

Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C.J., Heinsbroek, L.T.N., Schneider, O., Blancheton, J.P., Roque d’Orbcastel, E., Verreth, J.A.J., 2010. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquacultural Engineering* 43(3), 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2010.09.002>

Mc Intosh, R.P. (2000). Changing paradigms in shrimp farming IV, low protein feeds and feeding strategies. *Global Aquaculture Advocate* 3:44–50.

Minabi, K., Sourinejad, I., Alizadeh, M., Ghatrami, E.R., Khanjani, M.H., 2020. Effects of different carbon to nitrogen ratios in the biofloc system on water quality, growth, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture International* 28:1883–1898. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00564-7>

Mylonas, C.C., Gissis. A., Magnus, Y., Zohar, Y., 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a

sustained-release GnRHa delivery system. *Aquaculture* 153, 301-311.  
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00021-5)

Pereira-Santos, M., Shimoda, E., Andrade, A.F.C., Silva, L.A., Fujimoto, T., Senhorini, J.A., Yasui, G.S., Nakaghi, L.S.O., 2017. Grooves surrounding the micropyle decrease the inseminating dose in fish. *Zygote* 25(6), 731 – 739.  
<https://doi.org/10.1017/S0967199417000624>

Pinheiro, J.P.S., Assis, C.B., [Sanches, E.A.](#), [Moreira](#), R.G., 2020. Aluminum, at an environmental concentration, associated with acidic pH and high water temperature, causes impairment of sperm quality in the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characidae). *Environmental Pollution* 262, 114252.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114252>

Pinheiro, J.P.S., Lima, J., Assis, C.B., Branco, G.S., Gomes, A.D., Moreira, R.G., 2021. Paternal exposure to aluminum, acidity, and temperature affect fatty acid seminal profile, embryonic and larval development of *Astyanax altiparanae*. *Chemosphere* 266, 128935. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128935> 0045-6535

Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Forest, F., Castilho-Almeida, R.B., 2001. Cultivo do Lambari: Uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. *Panorama da Aquicultura* 11, 15-19.

Rafiee, G., Saad, C.R., 2005. Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis sp.*) growth in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 244(1-4): 109-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.029>

Rodríguez-Ballesteros, V., Mendoza-Garfias, B., Ulloa-Arvizu, R., Balcazar, A., Ornelas-García, P., 2022. Morphological description of gametes in cave and surface populations of *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853). *Zygote* 30, 719–729.  
<https://doi.org/10.1017/S0967199422000223>

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.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02598.x>.

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.  
<https://doi.org/10.1111/jai.12165>

Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Baggio, D.M., De Souza, B.E., 2009. Insemination dose for artificial fertilization of dourado oocytes. *Revista Brasileira De Zootecnia* 38(11), 2091- 2098. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001100003>

Sanches, E.A., Marcos, R.M., Baggio, D.M., Tessaro, L., Balen, R.E., Bombardelli, R.A., 2011. Sperm concentration estimate of fish semen using espermatoctrit method. *Revista Brasileira De Zootecnia* 40(6), 1163-1167. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600001>

Schryver, P.R., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277(3-4), 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>

Sgnaulin, T., Mello, G.L., Thomas, M.T., Garcia, J.R.E., Montes-de-Oca, G.A.R., Emerenciano, M.G.C., 2018. Biofloc technology (BFT): An alternative aquaculture system for piracanjuba *Brycon orbignyanus*? *Aquaculture* 485, 119-123. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.043>

Silva, N.J.R., Lopes, M.C., Fernandes, J.B.K., Henriques, M.B., 2011a. Caracterização dos sistemas de criação e da cadeia produtiva do lambari no estado de São Paulo, Brasil. *Informações Econômicas* 41, 17–28.

Silva, N.J.R., Lopes, M.C., Gonçalves, F.H.A.S., Gonsales, G.Z., Henriques, M.B., 2011b. Avaliação do potencial do mercado consumidor de lambari da baixada santista. *Informações Econômicas* 41, 5–17.

Siqueira-Silva, D.H., Santos- Silva, A.P., Bashiyo-Silva, C., Rodrigues, M.S., Vicentini, C.A., Ninhaus-Silveira, A., Veríssimo-Silveira, R., 2017. Testicular Structure and Seminal Pathway in the Yellowtail Tetra *Astyanax altiparanae* (Characiforms: Characidae). *Anatomia, Histologia, Embryologia* 46(4), 342-346. <https://doi.org/10.1111/ahe.12275>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2016. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 10(2), 351-369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>

Yasui, G.S., Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R.B., Senhorini, J.A., Nascimento, N.F., Foresti, F. *Biologia e criação do Lambari-do-rabo-amarelo (Astyanax altiparanae)*. In: Baldisserotto, B. (Org.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 3.ed., rev., atual. e ampl. – Santa Maria: Ed. UFMS, 2020. pp. 113-126.

Yasui, G.S., Senhorini, J.A., Shimoda, E., Pereira-Santos, M., Nakaghi, L.S.O., Fujimoto, T., Arias-Rodrigues, L., Silva, L.A., 2015. Improvement of gamete quality and

its short-term storage: An approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*. 9(3), 464-470. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002511>

Streit Jr., D.P., Moraes, G.V., Ribeiro, R.P., Povh, J.A., Souza, E.D., Oliveira, C.A.L., 2004. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar* 7, 157- 162.

Streit Jr., D.P., Ribeiro, R.P., Moraes, G.V., Mendez, L.V., Gallo, J.M., Digmayer, M., Povh, J.A., 2006. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. *Bioscience Journal* 22(3), 119-125.

Tacon, A.G.J., Cody, J., Conquest, L., Divakaran, S., Forster, I.P., Decamp, O., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition* 8:121–137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x>

Tolussi, C.E., Gomes, A.D.O., Kumar, A., Ribeiro, C.S., Nostro, F.L., Bain, P.A., Souza, G.B., Cuna, R., Honji, R.M., Moreira, R.G., 2018. Environmental pollution affects molecular and biochemical responses during gonadal maturation of *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characiformes: Characidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147, 926–934. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.056>

Watanabe, T. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68, 242-252. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00418.x>

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(3), 661-672. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>