

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR NO DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE MACHOS DE MATRINXÃ *Brycon cephalus*.**

**Ana Isabel Sanabria Ochoa
Bióloga**

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

**Dissertação apresentada ao Centro de
Aquicultura da UNESP - Câmpus
Jaboticabal, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Aquicultura - Área de Concentração em
Aquicultura de Águas Continentais**

**JABOTICABAL-SP
Outubro - 2002**

Homenagem

À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati...

Quero muito agradecer
à pessoa especial que é você,
por tudo que me proporcionou com sua atenção,
carinho e amizade...
A sua extraordinária alma, nunca olha a quem ajuda...
Sempre faz com dedicação e amor fraternal...
E você sabe que me ajudou muito, com sua amizade...
Você é uma daquelas pessoas raras
com um objetivo único de dar alegrias
às pessoas que lhe cercam...
Você que sempre está pronta a ajudar,
não importando quem...
Quero agradecer de coração!!
Pois com certeza eu não teria
tempo suficiente aqui em vida
para poder lhe retribuir,
tanta atenção, carinho,
compreensão, apoio e amizade...
Obrigada por tudo...!!

Autor desconhecido

Agradecimento especial ao Miguel Angel, meu querido esposo, grande companheiro

Agradeço a você, caminhante ao lado meu,
que não acreditou que a tempestade repentina
pudesse devastar minha alma,
que não aceitou que as areias jogadas nos meus olhos
viesses a confundir meus desejos autênticos.
Hoje agradeço a você, que mistura com a minha a sua energia
e não teme os punhais que me ameaçam
por sentir que meu coração é capaz de vencer
qualquer golpe armado da vida
Agradeço o sorriso que você abriu na fidelidade do seu rosto
e que todos os dias remete ao deserto que atravesso.
Ao seu grito que me anima nos pedaços mais caudalosos do rio.
À sua doce zanga que sempre me empurra além
e pede que eu dobre convicta as esquinas mais escuras.
Agradeço à sua oração que conversa com Deus
e me cobre de fé todas as noites,
aos anjos que encomenda para que me vistam de paz,
às lágrimas que você derrama em silêncio
por sentir a dor da minha dor
mas por saber que ela é só minha
e entender que a força está nos lenços da minha alegria.
Agradeço às palavras de estímulo que você escolhe com carinho
para que eu escute os sons da coragem real.
Agradeço por todos os dias você acreditar na minha escalada
por me enviar as cordas trançadas no tear do seu amor.
Agradeço pelo Sol sincero que você faz nascer no pico da montanha
e que me aquece a cada nova manhã que recomeço.
Obrigada meu marido guerreiro
que mantém apertada sua mão na minha.
Companheiro das lutas brancas
que ao meu lado empunha armas de uma munção florida,
flores de um jardim que nem todos podem sentir o aroma
mas que exalam o perfume que você inspirou da minha respiração.
Agradeço a você
que percebe o desejo do meu querer
e ajuda que eu arranque os cadeados da minha morada,
as vendas dos meus olhos,
e me aponta com delicadeza a sua convicção
da imortalidade do sonho que construí
quando o medo se fez por demais voraz ao meu coração.
Agradeço por você ser o meu amigo simples
que crê na luz que só eu posso acender em mim,
a luz que atravessa todos os muros,
todos que me são necessários para crescer.

Autor desconhecido

DEDICO:

Aos meus pais, Bertha e José pelo carinho, apoio e coragem a mim oferecidos na realização dos meus sonhos.

Aos meus sogros, Nelly e Miguel por acreditar em nosso futuro.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Dr. Paulo Carneiro e Dr. Carlos Alberto Vicentini, pelas valiosas sugestões para melhorar o trabalho.

À Profa. Dra. Laura Sakito Okada Nakaghi, pela amizade, atenção e ajuda a mim oferecidos durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros, pela ajuda nas análises estatísticas.

À Damares Perecin Roviero, pela alegria, amizade, carinho a mim oferecidos durante a minha permanência no laboratório de fisiologia de peixes.

À Shirley pela amizade e carinho a mim oferecidos.

Aos meus queridos amigos, Ana Paula & Fabiano e Juliana & Flavio pela amizade, pelo carinho, preocupação e as palavras de conforto durante os momentos difíceis.

Ao Sr. Orandi Mateus, pela ajuda prestada na elaboração do material histológico.

Ao colega Antônio Cleber da Silva Camargo, por compartilhar seus animais experimentais e fornecer informação importante no desenvolvimento desta dissertação.

Aos meus colegas do grupo de Fisiologia de peixes, pela convivência e ajuda prestada nas minhas coletas.

Aos funcionários do CAUNESP, pelo carinho e constante colaboração.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), pela oportunidade de dar continuidade a minha formação profissional.

Ao Departamento de Morfologia e Fisiologia da FCAV/UNESP. Pelo apoio técnico.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

A todos aqueles que de uma ou de outra forma participaram de minha formação.

ÍNDICE

Resumo	1
Abstract	4
Capítulo I	
Influência da restrição alimentar no processo reprodutivo dos peixes	
Introdução geral	7
Bibliografia	11
Capítulo II	
Restrição alimentar durante a maturação final do matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>) e efeito sobre as características seminais e desempenho reprodutivo	
Resumo	15
Abstract	17
1. Introdução	18
2. Material e métodos	20
3. Resultados	22
4. Discussão	26
5. Bibliografia	29
Capítulo III	
Restrição alimentar durante o ciclo de maturação gonadal do matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>) e efeitos sobre as características seminais e desempenho reprodutivo	
Resumo	35
Abstract	37
1. Introdução	39
2. Material e métodos	41
3. Resultados	44
4. Discussão	51
5. Bibliografia	55
Capítulo IV	
Conclusões	60

RESUMO

Este trabalho foi realizado no Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal-SP. Foram feitos 2 experimentos para avaliar o efeito da restrição alimentar moderada e alternada nas características seminais do matrinxã (*Brycon cephalus*) e no seu desempenho reprodutivo. No primeiro experimento, utilizaram-se machos adultos distribuídos em 2 grupos, sendo que um (G1, controle) recebeu ração diariamente *ad libitum*, e o outro (G2, experimental) foi alimentado de forma alternada (3 dias de alimentação e 2 dias de restrição) por três meses, no período da maturação final dos gametas. Cada grupo foi distribuído em 2 viveiros, com 10 animais em cada. Terminados os tratamentos, os machos foram induzidos à reprodução com extrato pituitário de carpa (EPC) ($1,0 \text{ mg kg}^{-1}$). Após 150 horas/grau, os machos foram anestesiados (benzocaína, $0,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) e foi coletado o fluido seminal individualmente, por massagem abdominal. Após medido o volume, sêmen foi coletado em tubos capilares para determinação do espermatócrito. Posteriormente, foram avaliadas a motilidade, porcentagem de células vivas e mortas e concentração espermática em câmara de Neubauer. A seguir, realizou-se um teste de fertilização, utilizando óvulos de uma fêmea alimentada diariamente e induzida com EPC. Os óvulos foram divididos em 14 alíquotas e fertilizados com sêmen de cada um dos machos utilizados no estudo, sendo incubados em caixas plásticas com 20 L de água e aeração constante. A porcentagem de fertilização foi calculada 7 horas pós-fertilização. A taxa de eclosão também foi registrada e as larvas obtidas foram observadas até a reabsorção do saco vitelino (72 horas pós-eclosão), sendo coletadas e fixadas a cada 24 horas, para medida de peso e comprimento.

O volume espermático foi maior em G2 ($9,29 \pm 3,31 \text{ ml}$) que em G1 ($6,14 \pm 1,10 \text{ ml}$), enquanto que a motilidade foi a mesma nos dois grupos (5,00). A concentração espermática foi similar em ambos os tratamentos ($6,79 \pm 1,16$ e $6,65 \pm 1,37 \times 10^6 \text{ cél } \mu\text{L}^{-1}$, em G1 e G2, respectivamente), assim como o espermatócrito ($13,07 \pm 1,99$ em G1 e $13,86 \pm 2,87 \%$ em G2). O número de células vivas registrado não diferiu entre os grupos ($96,35 \pm 0,36$ e $96,95 \pm 0,87 \%$, em G1 e G2). Quanto às taxas de fertilização ($68,77 \pm 2,49 \%$ em G1 e $72,30 \pm 12,07 \%$ em G2) e eclosão ($86,04 \pm$

3,31 em G1 e $85,14 \pm 3,17$ % em G2), também não apresentaram diferenças. Com relação ao crescimento das larvas, ao final de 72 horas de cultivo, elas pesavam $1,97 \pm 0,26$ e $1,92 \pm 0,11$ mg e mediam $0,746 \pm 0,020$ e $0,754 \pm 0,014$ mm, nos grupos alimentados diariamente e com restrição, respectivamente.

No segundo experimento, os machos foram mantidos em 8 viveiros de terra (4 por tratamento) e submetidos à restrição de forma alternada, com 3 dias de alimentação e 2 dias de restrição, durante oito meses (março a novembro de 2001), após o que foram realizados os mesmos procedimentos do experimento anterior. Além dos parâmetros já descritos, foram medidos a atividade espermática, o pH, a temperatura e a osmolaridade do sêmen. Foram utilizados 32 indivíduos, sendo induzidos para reprodução aqueles que apresentavam sêmen na hora da seleção (11 restritos e 14 normais). Os 7 restantes (2 normais e 5 restritos) foram sacrificados para coleta e pesagem de gônadas e fígado para cálculo de IGS, IHS e histologia testicular.

Os resultados obtidos mostraram que o volume espermático do grupo submetido à restrição alimentar foi menor ($8,06 \pm 4,32$ ml) que dos alimentados diariamente ($12,54 \pm 4,52$ ml), enquanto à motilidade foi semelhante nos 2 grupos ($4,65 \pm 0,93$ em G1 e $4,63 \pm 0,50$ em G2), assim como a atividade espermática ($76,79 \pm 37,92$ seg. em G1 e $75,18 \pm 29,66$ seg. em G2). A concentração espermática foi de $4,60 \pm 1,18$ e $4,76 \pm 1,86 \times 10^6 \text{ cel } \mu\text{L}^{-1}$ em G1 e G2, e o espermatócrito apresentou valores de $9,43 \pm 2,33$ % para G1 e de $10,36 \pm 3,91$ % para G2. O número de células vivas foi similar nos dois grupos ($95,22 \pm 4,00$ % em G1 e $96,95 \pm 1,22$ % em G2). Os valores de osmolaridade, pH e temperatura para G1 foram $260,86 \pm 27,49 \text{ mOsmol Kg}^{-1}$, $7,8 \pm 0,10$ e $28,85 \pm 0,40$ °C, e $260,32 \pm 24,11 \text{ mOsmol Kg}^{-1}$, $7,87 \pm 0,10$ e $28,71 \pm 1,22$ °C em G1 e G2, respectivamente. Quanto ao IGS (G1: $0,287 \pm 0,106$ e G2: $0,468 \pm 0,216$) e IHS (G1: $1,012 \pm 0,143$ e G2: $1,187 \pm 0,258$), também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Já na análise histológica, foi possível observar nos animais do G1 características próprias do estágio de maturação inicial, com predominância de espermatogônias e grande quantidade de cistos de espermatócitos. No G2, houve presença de indivíduos em maturação final ou maduros, observando-se nos primeiros, alguns cistos de espermatozóides e nos restantes foi evidente o rompimento dos cistos ao lúmen. Por outro lado, as taxas de fertilização ($76,31 \pm 16,06$ % em G1 e $68,30 \pm 20,21$ % em G2) e de eclosão ($77,85 \pm 14,87$ % em G1 e $74,01 \pm 16,52$ % em G2)

também foram similares nos dois grupos. O peso e comprimento das larvas ao final das 72 horas de cultivo também não apresentaram diferenças entre os grupos ($1,183 \pm 0,214$ mg e $0,650 \pm 0,011$ em G1 e $1,265 \pm 0,137$ mg e $0,652 \pm 0,009$ mm em G2)

Os resultados dos 2 experimentos permitem concluir, pelas variáveis estudadas, que a restrição alimentar moderada e alternada, da forma como foi aplicada, na fase final da maturação dos gametas ou por período mais longo, anterior à desova, não prejudicou o desempenho reprodutivo dos machos de matrinxã, ou o crescimento inicial da prole, e pode ser recomendado no cultivo desta espécie.

ABSTRACT

The present study was performed in the Aquaculture Center of the University of São Paulo State, Jaboticabal, SP. Two experiments evaluated the effect of moderate and alternate food restriction on seminal characteristics and reproductive performance of matrinxã (*Brycon cephalus*). In the first experiment, adult males were distributed into 2 groups. One of them received ration daily (G1, control) and the other (G2, experimental) was fed alternately (fed 3 for days, starved 2 for days) for 3 months during the gonadal maturation. Each group was allotted into 2 earthen ponds (10 fish each) and after 3 months of treatment, males were induced to reproduction with carp pituitary extract (CPE) (1 mg kg^{-1}). After 150 hour/degree, the males were anesthetized (benzocaine, 0.1 g/L^{-1}) and semen from each fish were collected by abdominal massage to measure the volume and the spermatocrit in capillary tubes. After that, through microscopy, the cell motility, number of live cells and cell concentration in Neubauer Chamber were determined. A fertilization test was also performed utilizing oocytes from one single female fed daily and CPE induced. Oocytes were divided into 14 samples and fertilized with semen from every male individually. They were incubated in 20L plastic boxes under constant water aeration. Fertilization rate was determined 7 h after fertilization. Hatching rate was also registered and larvae were observed until the yolk sac resorption (72 h after hatching), being collected and fixed to weight and length measurement.

Spermatic volume was higher in G2 ($9.29 \pm 3.31 \text{ ml}$) than in G1 ($6.14 \pm 1.10 \text{ ml}$), while the motility was similar in both groups (5.00). Cell concentration were also similar in both treatments (6.79 ± 1.16 and $6.65 \pm 1.37 \text{ cell } 10^6 \mu\text{L}^{-1}$, in G1 and G2, respectively), as well as the spermatocrit ($13.07 \pm 1.99 \%$ in G1 and $13.86 \pm 2.87 \%$ in G2). Live cells number did not differ between groups (96.35 ± 0.36 and $96.95 \pm 0.87 \%$, in G1 and G2). No differences were verified on fertilization rates ($68.77 \pm 2.49 \%$ in G1 and $72.30 \pm 12.07 \%$ in G2) and hatching rate (86.04 ± 3.31 in G1 and $85.14 \pm 3.17 \%$ in G2). After 72h of hatching, larvae weighed 1.97 ± 0.26 and $1.92 \pm 0.11 \text{ mg}$ and the lengths were 0.746 ± 0.020 and $0.754 \pm 0.014 \text{ mm}$, in daily fed and food restricted groups, respectively.

In the 2nd experiment, the males were maintained in 8 earthen ponds (4 per treatment) and submitted to food restriction during 8 months preceding the reproduction. The experimental procedures followed those of the 1st experiment. Milt pH, temperature and osmolarity were measured. A total of 32 males were utilized and those that presented semen during the selection were CPE induced (11 food restricted and 14 daily fed). The 7 remainders were killed to GSI (gonad somatic index), HSI (hepatic somatic index) calculation and gonad histology.

The results showed that milt volume of the food-restricted group was lower (8.06 ± 4.32 ml) than that of the daily fed group (12.54 ± 4.52 ml), while the motility was similar in both groups (4.65 ± 0.93 in G1 and 4.63 ± 0.50 in G2), as well as the semen activity (76.79 ± 37.92 seg in G1 and 75.18 ± 29.66 seg in G2). Spermatic concentration was 4.60 ± 1.18 and 4.76 ± 1.86 cell $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ in G1 and G2, and the spermatocrit presented values of 9.43 ± 2.33 % for G1 and 10.36 ± 3.91 % for G2. Live cells number was similar in both groups (95.22 ± 4.00 % in G1 and 96.95 ± 1.22 % in G2). Osmolarity, pH and temperature for G1 were 260.86 ± 27.49 mOsmol Kg^{-1} , 7.8 ± 0.10 and 28.85 ± 0.40 °C, and 260.32 ± 24.11 mOsmol Kg^{-1} , 7.87 ± 0.10 and 28.71 ± 1.22 °C in G1 and G2, respectively. GSI (G1: 0.287 ± 0.106 and G2: 0.468 ± 0.216) and HSI (G1: 1.012 ± 0.143 and G2: 1.187 ± 0.258) were also similar in both groups. Regarding histological analyzes, it was possible to observe in G1 fish characteristic of initial maturation with spermatogonia predominance and great amount of spermatocyte cysts. In G2, there were fish on final maturation or ripe, being observed in the first ones some cysts of spermatozooids and in the remaining ones breakdown of the cysts on lumen. Fertilization rate (76.31 ± 16.06 % in G1 68.30 ± 20.21 % in G2) and hatching rate (77.85 ± 14.87 % in G1 and 74.01 ± 16.52 % in G2) were also similar in both groups. No differences were verified on larvae growth, at 72 h of cultivation, they weighed 1.183 ± 0.214 and 1.265 ± 0.137 mg and the lengths were 0.650 ± 0.011 and 0.652 ± 0.009 mm, in daily fed and food restricted groups, respectively.

The results from both experiments show that the moderate and alternate food restriction, as proposed in this study, in the final gamete maturation or during a more prolonged period before the spawning did not delay the reproductive performance of males of matrinxã, or the early growth of the larvae and might be recommended in the cultivation of this species.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR
NO PROCESSO REPRODUTIVO DOS PEIXES

INTRODUÇÃO GERAL

Durante o ciclo de vida de muitas espécies de peixes, a restrição alimentar é uma ocorrência natural. Pode ocorrer na migração reprodutiva ou durante o inverno, quando as atividades físicas e metabólicas são mínimas (Borghetti & Canzi, 1993; Mackenzie *et al.*, 1998). Por outro lado, a reprodução é um aspecto muito importante no estudo dos peixes, pois graças a ela pode-se manter populações viáveis e garantir a perpetuação das espécies.

O conhecimento da fisiologia do processo reprodutivo e sua relação com as condições de privação alimentar que os peixes podem suportar deve ajudar no estabelecimento de técnicas de manejo mais eficientes e baratas. A maioria dos trabalhos existentes na literatura está limitada ao estudo do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (Woynarovich & Horvath, 1983; Harvey & Carosfeld, 1993), e poucos abordam fatores envolvidos no processo de reprodução, tais como os fatores nutricionais, dentro os quais se destaca a disponibilidade de alimento, mesmo sabendo que este fator está entre os fatores ambientais de vital importância para desencadear o processo reprodutivo.

Um aspecto muito importante, e ainda pouco entendido, na reprodução dos peixes é, sem dúvida, a nutrição dos reprodutores. Segundo Izquierdo *et al.* (2001), as exigências nutricionais dos peixes são diferentes dependendo da fase produtiva do animal. Assim, reprodutores com bom estado nutricional terão melhor desempenho na reprodução, enquanto que animais com deficiências nutricionais geralmente têm seu potencial reprodutivo reduzido. Por outro lado, Burton (1994) concluiu que, na espécie *Pleuronectes americanus*, na fase de maturação final, o estado nutricional do peixe era mais importante que a quantidade de alimento fornecida. Além disso, segundo Izquierdo *et al.* (2001), muitas deficiências e problemas encontrados no início do cultivo de larvas de peixes estão diretamente relacionados ao regime alimentar dos reprodutores.

Durante a ausência ou redução de alimento, naturalmente ligada ao processo reprodutivo, os peixes apresentam habilidade para suportar longos períodos de privação de alimento ou de jejum, utilizando diferentes estratégias hormonais e metabólicas. Segundo Mommsen & Plisetskaya (1991), os processos de anorexia da reprodução estariam correlacionados com o perfil de alguns hormônios, com destaque para a

insulina. Deste modo, em épocas de restrição de alimento e posterior alimentação, a secreção de insulina seria ativada pela realimentação, e atingiria um pico que melhoraria o aproveitamento do alimento disponível para manutenção do animal e para o processo reprodutivo, atuando indiretamente na reprodução através do metabolismo (Carvalho, 2001). Além disso, também poderia interferir diretamente no processo reprodutivo graças a seu efeito esteroidogênico nas gônadas (Geisthovel *et al.*, 1990; Hammond *et al.*, 1991). Confirmando estes fatos, Srivastava & Van Der Kraak (1994) demonstraram que a insulina aumentava a produção de esteróides nos ovários de *Carassius auratus*, entanto que Urbinati *et al.* (1997) observaram um efeito gonadotrófico da insulina em juvenis de *Piaractus mesopotamicus*, os quais apresentaram gônadas maduras e altos níveis de testosterona ao serem tratados com insulina bovina, durante 72 dias. Adicionalmente, outros pesquisadores identificaram receptores de insulina nos ovários de diferentes peixes durante a época reprodutiva (Gutiérrez *et al.*, 1993; Maestro *et al.*, 1997; Maestro *et al.*, 1999).

Se por um lado, a maioria dos peixes reofílicos tem uma marcada diminuição na ingestão de alimento no período reprodutivo, sem conseqüências adversas ao seu desempenho reprodutivo, a literatura especializada ainda apresenta controvérsia sobre a verdadeira relação entre restrição alimentar e reprodução, bem como efeito diferente em fêmeas e machos, visto que as fêmeas apresentam maior sensibilidade porque, nelas, a maturação tem maior custo energético.

Estudos com salmonídeos utilizaram a restrição alimentar, como uma ferramenta para diminuir a maturação precoce dos indivíduos, principalmente dos machos, pois um dos grandes problemas existentes nesse cultivo é a maturação indesejável de machos jovens. Assim, foi demonstrado que a restrição diminuí quantidade de peixes maduros (Thorpe *et al.*, 1990; Rowe & Thorpe, 1990). Estes resultados foram corroborados por Reimers *et al.* (1993), Berglund (1995), Hopkins & Unwin (1997) e Duston & Saunders (1999). Uma redução na taxa de alimentação causou, ainda, inibição da maturação gonadal em espécies como *Carassius auratus* (Sasayama & Takahashi, 1972) e *Dicentrarchus labrax* (Cerdá *et al.*, 1994).

Por outro lado, Silverstein & Shimma (1994) demonstraram que, a restrição alimentar de 50% durante 6 meses, reduz a porcentagem de fêmeas maduras de *Oncorhynchus masou*, mas não dos machos, resultados confirmados por Berglund

(1995) e Duston & Saunders (1999) em *Salmo salar*. Efeito negativo da restrição alimentar na maturação de fêmeas de *Scophthalmus maximus* também foi verificado, enquanto que nos machos não houve diferença significativa (Bromley *et al.*, 2000). Semelhantemente, a utilização de esquema de restrição alimentar não provocou alteração em testículos de *Cichlasoma nigrofasciatum* submetidos a restrição alimentar (Townshend & Wooton, 1984), assim como não afetou a porcentagem de maturação em machos de *Salvelinus alpinus* (Jobling *et al.*, 1993). Outrossim, maturação gonadal de *Salmo salar* foi relatada por Berglund (1995), frente a redução da taxa de alimentação.

Em outros estudos, nenhuma alteração foi verificada nos níveis de 11-cetotestosterona, nem de 17 β estradiol de *Oreochromis niloticus*, depois de 2 semanas sem alimento (Toguyeni *et al.*, 1996) e resultados semelhantes foram demonstrados em *Mcquaria ambigua* submetida a jejum durante 5 meses (Collins & Anderson, 1999).

Adicionalmente, Carvalho (2001) demonstrou que, em *Brycon cephalus*, uma restrição alimentar de 40%, ao longo de um ano, não afetou o perfil dos níveis plasmáticos de testosterona, o desenvolvimento gonadal dos indivíduos, nem o IGS, em ambos os sexos. O mesmo aconteceu com o IGS da *Tilapia zillii* e do *Plecoglossus altivelis* submetidos à redução na quantidade de alimento fornecido (Yao *et al.*, 1994; Coward & Bromage, 1999). Estudo anterior com truta arco íris, por exemplo, já havia demonstrado que a restrição alimentar não afeta o índice gonadossomático (IGS) nem a qualidade dos ovos na espécie (Ridelman *et al.*, 1984).

Por outro lado, a expressão de genes de gonadotropinas na hipófise, não foi afetada por restrição alimentar em fêmeas maduras de *Carassius auratus* (Sohn *et al.*, 1999). Com relação ao efeito da restrição no desenvolvimento embrionário, em *Dicentrarchus auratus*, após 6 meses de sob esta condição, ovos e larvas recém eclodidas foram menores que os obtidos de indivíduos que recebiam a quantidade completa de alimento (Cerdá *et al.*, 1994). Uma possível explicação para as diferenças encontradas na literatura pode estar na intensidade e duração da restrição alimentar, bem como da época em que ela é imposta ou da espécie estudada, com suas diferentes características biológicas.

Apesar do conhecimento já disponível, faltam estudos que possam otimizar as técnicas de reprodução e de cultivo adequado dos peixes. O conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva existente até o momento tem dado especial ênfase à reprodução

de fêmeas, razão pela qual nesta pesquisa foi estudado o desempenho reprodutivo dos machos. Assim, procurou-se avaliar a influência da restrição alimentar moderada e alternada sobre as características seminais e o desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, uma espécie de grande valor comercial na piscicultura brasileira, originária da Bacia Amazônica (Howes, 1982) e introduzida com sucesso no sudeste do país (Scorvo-Filho *et al.*, 1998).

BIBLIOGRAFIA

- Berglund, I. Effects of spring temperature and feeding regime on sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) male parr. In: Goetz, F.W. & Thomas, P. (Eds.), Reproductive Physiology of Fish. Fish Symp. 95, Austin, 1995, p. 170-172.
- Borghetti, J. & Canzi, C. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. Aquaculture. v. 114 (1-2), p. 93-101, 1993.
- Bromley, J.; Ravier, C. & Withames, P. The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. J. Fish Biol. v. 56, p. 264-278, 2000.
- Burton, M. A critical period for nutritional control of early gametogenesis in female winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Pisces: TELEOSTEI). J. Zool. London. v. 233, p. 405-415, 1994.
- Carvalho, E.G. Redução na oferta de ração: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, TELEOSTEI: Characidae) em cativeiro. Tese, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP. 2001.
- Cerdá, J.; Carillo, M. & Ramos, J. Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. Aquat. Living Resour. v. 7, p. 255-256, 1994.
- Collins, A. & Anderson, T. The role of food availability in regulating reproductive development in female golden perch. J. Fish Biol. v. 55, p. 94-104, 1999.
- Coward, K. & Bromage, N. Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first-feeding to sexual maturity. Aquat. Living Resour. v. 12 (1), p. 11-22, 1999.
- Duston, J. & Saunders, R.L. Effect of winter food deprivation on growth and sexual maturity of Atlantic salmon (*Salmo salar*,) in seawater. Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 56, p. 201-207, 1999.
- Geistovél, F.; Maretti-Rojas, F. & Asch, R. Insulin-like growth factors and thecal-granulosa-cell function. Human Reprod. v. 5, p. 785-799, 1990.
- Gutiérrez, J.; Párrizaz, M.; Carneiro, N.; Maestro, M. & Planas, J. Insulin and IGF-I receptors and tyrosine kinase activity in carp ovaries: changes with reproductive cycle. Fish Physiol. Biochem. v. 11, p. 247-254, 1993.

- Hammond, J.; Mondschein, J.; Samaras, S. & Cannings, S. The ovarian insulin-like growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* v. 40, p. 411-416, 1991.
- Harvey, B. & Carosfeld, J. Induced breeding in tropical fish culture. I. D. R. C. Ottawa, Ont., 1993.
- Hopkins, C. & Unwin, M. The effect of restricted springtime feeding on growth and maturation of freshwater-reared chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquacult. Res.* v. 28, p. 545-549, 1997.
- Howes, G. Review of genus *Brycon* (Teleostei, Characoidei) *Bull. Brt. Mus. Nat. Hist.(Zool.)*, v. 43 (1), p. 1-47, 1982.
- Izquierdo, M.; Fernández-Palacios, H. & Tacon, A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, v. 197, p. 25-42, 2001.
- Jobling, M; Jørgensen, E. & Siikavuopio, S. The influence of previous feeding regime on the compensatory growth response of maturing and immature Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *J. Fish Biol.* v. 43, p. 409-419, 1993.
- Mackenzie, D.; Vanputte, C. & Leiner, K. Nutrient regulation of the endocrine function in fish. *Aquaculture*. v.161, p.3-25, 1998.
- Maestro, M.; Planas, J.; Moriyama, S. Gutiérrez, J. & Swanson, P. Ovarian receptor for insulin and insulin-like growth factors and effects of steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 106, p. 189-201, 1997.
- Maestro, M.; Mendez, E.; Planas, J. & Gutiérrez, J. Dynamics of insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-I) ovarian receptors during maturation in the brown trout (*Salmo trutta*). *Fish Physiol. Biochem.* v. 20, p. 341-349, 1999.
- Mommsen, T. & Plisetskaya, E. Insulin in fishes and agnathans: History, structure and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.* v. 4, p. 225-259, 1991.
- Reimers, E.; Kørrefjord, A. & Stavøstrand, S. Compensatory growth and reduced maturation in second sea winter farmed Atlantic salmon following starvation in february and march. *J. Fish Biol.* v. 43, p. 805-810, 1993.
- Ridelman, J.; Hardy, R. & Brannon, E. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*. v. 37, p. 133-140, 1984.
- Rowe, D. & Thorpe, J. Suppression of maturation in male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr by reduction in feeding and growth during Spring months. *Aquaculture*. v. 86, p. 291-313, 1990.

- Sasayama, Y. & Takahashi, H. Effect of starvation and unilateral astration in male goldfish *carassios auratus*, and a desng of bioassay for fish gonadotropin using starved goldfish. Bull.Fac. Fish, Hokkaido Univ. v. 22, p. 267-283, 1972.
- Scorvo-Filho, J.; Martins, N. & Ayrosa, L. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. Informações Econômicas. v. 28, p. 41-60, 1998.
- Silverstein, J.T. & Shimma, H. Effect of restricted feeding on early maturation in female and male amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae*. J. Fish Biol. v. 45, p.1133-1135, 1994.
- Sirvastava, R. & Van Der Kraak, G. Insulin as an amplifier gonadotropin action on steroid production: Mechanism and sites of action in goldfish prematurational full-grown ovarian follicles. Gen. Comp. Endocrinol. v. 95, p. 60-70, 1994.
- Sohn, Y.; Yoshiura, Y.; Kobayashi, M. & Ainda, M. Seasonal Changes in mRNA Levels of Gonadotropin and Thyrotropin Subunits in the Goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol. v. 113, p. 436-444, 1999.
- Thorpe, J.; Talbot, C.; Miles, M. & Keay, D. Control of maturation in cultured Atlantic salmon, *Salmo salar*, in pumped seawater tanks, by restricting food intake. Aquaculture. v. 86, p. 315-326, 1990.
- Toguyeni, A; Baroiller, J; Fostier, A; Le Bail, P.; Kühn, E.; Mol, K. & Fauconneau, B. Consequences of food restriction on short-term growth variation and plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. Gen. Comp. Endocrinol. v. 103, p. 167-175, 1996.
- Townshend, T. & Wootton, R. Effects of food supply on reproduction of the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. J. Fish Biol. v. 24, p. 91-104, 1984.
- Urbinati, E.; Garutti, M. & Santos, H. A case report on hyperandrogenism in juvenile fish under insulin treatment. Braz. J. Morph. Sci. v. 14 (1), p. 37-38, 1997.
- Woynarovich, E. & Horváth, L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, p. 220, 1983.
- Yao, S.; Umino, T. & Nakagawa, H. Effect of feeding frequency on lipid accumulation in ayu. Fish. Sci. v. 60 (6), p. 667-671, 1994.

CAPÍTULO II

RESTRIÇÃO ALIMENTAR DURANTE A
MATURAÇÃO FINAL DO MATRINXÃ
(*Brycon cephalus*) E EFEITO SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E
DESEMPENHO REPRODUTIVO

RESUMO

O presente experimento avaliou o efeito da restrição alimentar moderada e alternada aplicada durante a fase da maturação dos gametas, sobre as características seminais e o desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, *Brycon cephalus*.

Foram utilizados machos adultos, distribuídos em 4 viveiros com 10 peixes cada, e divididos nos grupos controle (G1) e experimental (G2). Os machos do G1 receberam ração diariamente *ad libitum*, enquanto que os do G2 foram alimentados de forma alternada, com 3 dias de alimentação e 2 dias de restrição durante os três meses anteriores à reprodução (setembro, outubro e novembro de 2000). Na realimentação, os animais experimentais recebiam a mesma quantidade que os alimentados diariamente para evitar ingestão compensatória. Depois de 3 meses, foram selecionados 7 indivíduos de cada grupo e induzidos à reprodução com extrato pituitário de carpa (EPC), na dose de 1,0 mg kg⁻¹. Após 150 horas/grau, os machos foram anestesiados com benzocaína (0,1g/L⁻¹) e foi coletado o fluido seminal de cada indivíduo, por massagem abdominal. O volume extrusado foi medido e o sêmen coletado em tubos capilares para determinação do espermatócrito. Posteriormente, foi feita a análise microscópica do material e avaliadas a motilidade, porcentagem de células vivas e mortas e concentração espermática em câmara de Neubauer. Foi realizado um teste de fertilização, utilizando-se óvulos de uma fêmea controle induzida com EPC. Os óvulos foram divididos em 14 alíquotas, fertilizados com sêmen de cada um dos machos utilizados no estudo e incubados em caixas plásticas com 20 L de água e aeração constante. A porcentagem de fertilização foi calculada 7 horas pós-fertilização. A porcentagem de eclosão também foi calculada e as larvas obtidas foram coletadas a cada 24 horas até reabsorção do saco vitelino (72 horas pós-eclosão), para medida do peso e comprimento. O volume espermático foi menor em G1 (6,14 ± 1,1 ml) que em G2 (9,29 ± 3,31 ml), enquanto a motilidade foi a mesma nos dois grupos (5,00). A concentração espermática foi similar nos dois grupos (6,79 ± 1,16 e 6,65 ± 1,37 cel 10⁶ µL⁻¹, em G1 e G2, respectivamente), assim como o espermatócrito (13,07 ± 1,99 % em G1 e 13,86 ± 2,87 % em G2). O número de células vivas registradas não diferiu entre os grupos (96,35 ± 0,36 e 96,95 ± 0,87 %, em G1 e G2), bem como as taxas de fertilização (68,77 ± 2,49 % em G1 e 72,30 ± 12,07 % em G2) e de eclosão (86,04 ± 3,31 % em G1 e 85,14 ± 3,17 % em G2). Com relação ao crescimento das larvas, não houve influência da restrição alimentar. Ao final de 72 horas de cultivo, as larvas apresentaram peso de 1,97 ± 0,26 e

1,92 $\pm$ 0,11 mg e comprimento de 0,746 $\pm$ 0,020 e 0,754 $\pm$ 0,014 cm, nos grupos alimentados diariamente e alimentados com restrição, respectivamente.

Os resultados mostraram que, com exceção do volume espermático aumentado, a restrição alimentar imposta não afetou o desempenho reprodutivo do matrinxã nem o crescimento inicial da prole, sugerindo que este manejo alimentar, da forma como aplicado pode ser indicado no cultivo da espécie.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of moderate and alternate feeding restriction imposed during the gonadal maturation on the semen characteristics and reproductive performance of matrinxã, *Brycon cephalus*. Adult males were distributed in 4 earthen ponds (10 fish each) and separated into control (G1) and experimental (G2) groups. G1 males received ration daily *ad libitum* and G2 males were feeding restricted (full ration for 3 days/starved for 2 days) during 3 months preceding spawning (September, October and November). At the re-alimentation period, experimental fish received the same amount of than control fish to avoid compensatory intake. After 3 months, 7 fish from each group were selected and induced to reproduction with carp pituitary extract (CPE) (1,0 mg kg⁻¹). After 150 hours/degree, males were anesthetized with benzocaine (0.1g/L⁻¹) and semen were collected from each male by abdominal massage. The volume was registered and semen collected in capillary tubes for spermatocrit determination. Cell motility, number of live cells and cell concentration were determined. A fertilization test was also performed utilizing oocytes from one control female CPE induced. Oocytes were divided into 14 samples and fertilized with semen from every male individually. Eggs were incubated in 20 L plastic boxes and constant water aeration. Fertilization rate was determined 7 h after fertilization. Hatching rate was also determined and larvae collected from 24 to 72 h after hatching (yolk sac resorption) to measure weight and length. Spermatic volume was lower in G1 (6.14 ± 1.1 ml) than in G2 (9.29 ± 3.31 ml), while motility was similar in both groups (5.00). Semen concentration were similar in both groups (6.79 ± 1.16 and 6.65 ± 1.37 cell 10⁶ µL⁻¹, in G1 and G2, respectively), as well as spermatocrit (13.07 ± 1.99 % in G1 and 13.86 ± 2.87 % in G2). Live cell number did not differ between groups (96.35 ± 0.36 and 96.95 ± 0.87 %, in G1 and G2), and also fertilization (68.77 ± 2.49 % in G1 and 72.30 ± 12.07 % in G2) and hatching rate (86.04 ± 3.31 % in G1 and 85.14 ± 3.17 % in G2). Feeding restriction did not affect larvae growth. At 72 h of cultivation, larvae presented body similar weight and length (1.97 ± 0.26 and 1.92 ± 0.11 mg and 0.746 ± 0.020 and 0.754 ± 0.014 cm in daily fed and feeding restricted larvae, respectively).

The results showed that, except for increased semen volume, the feeding restriction imposed to fish alter neither the reproductive performance nor the early larval growth indicating that the feeding scheme tested might be utilized in the culture of this species.

1. INTRODUÇÃO

A restrição alimentar é um evento que ocorre naturalmente nos peixes, inclusive na migração reprodutiva (Mackenzie *et al.*, 1998). Por outro lado, a reprodução é um dos aspectos mais importantes no estudo dos peixes, pois graças a ela pode-se manter populações viáveis e garantir a perpetuação das espécies. Por isso, é muito importante estudar a fisiologia do processo reprodutivo e sua relação com as condições de privação alimentar que os peixes às vezes têm que enfrentar. Também é muito importante conhecer os mecanismos que determinam o aproveitamento dos nutrientes, tanto para crescimento quanto para desenvolvimento das gônadas (Henderson *et al.*, 2000), bem como os fatores que influenciam o ciclo gonadal, dentro os quais se destacam a temperatura, a estocagem de gordura e o nível de alimentação durante as diferentes estações (Everson *et al.*, 2000).

A ausência ou redução natural de alimento, ligada ao processo reprodutivo dos peixes, parece ser sustentada por estratégias hormonais e metabólicas. Segundo Mommsen & Plisetskaya (1991), o processo de anorexia na reprodução está correlacionado com o perfil de alguns hormônios, com destaque para a insulina. Deste modo, em épocas de restrição de alimento e posterior alimentação, a secreção de insulina seria ativada pela realimentação, e atingiria um pico que melhoraria o aproveitamento do alimento disponível para manutenção do animal e para o processo reprodutivo, atuando indiretamente na reprodução através do metabolismo (Carvalho, 2001). Além disso, também poderia interferir diretamente no processo reprodutivo graças a seu efeito esteroideogênico nas gônadas (Geisthovel *et al.*, 1990; Hammond *et al.*, 1991). Confirmando estes fatos, Srivastava & Van Der Kraak (1994) demonstraram que a insulina aumentava a produção de esteróides nos ovários de *Carassius auratus*; entanto que Urbinati *et al.* (1997) observaram um efeito gonadotrópico da insulina em juvenis de *Piaractus mesopotamicus*, os quais apresentaram gônadas maduras e altos níveis de testosterona ao serem tratados com insulina bovina durante 72 dias. Adicionalmente, outros pesquisadores identificaram receptores de insulina nos ovários de diferentes peixes durante a época reprodutiva (Gutiérrez *et al.*, 1993; Maestro *et al.*, 1997; Maestro *et al.*, 1999).

Segundo Bromley *et al.* (2000), os níveis de fontes nutritivas utilizadas na reprodução dependem da quantidade de alimento fornecido aos peixes e está diretamente relacionada com a fecundidade. Esse assunto já foi estudado em muitas espécies de peixes cultivados e embora existam vários trabalhos sobre a relação entre disponibilidade de

alimento e o desempenho reprodutivo, ainda há controvérsias entre os resultados obtidos. Alguns estudos mostram efeitos negativos da restrição alimentar na reprodução, em várias espécies (Sasayama & Takahashi, 1972; Thorpe *et al.*, 1990; Reimers *et al.*, 1993; Cerdá *et al.*, 1994; Silverstein & Shimma, 1994; Berglund, 1995; Hopkins & Unwin, 1997; Duston & Saunders, 1999; Bromley *et al.*, 2000), enquanto que outros não observaram mudanças em função da disponibilidade de alimento (Ridelman *et al.*, 1984; Jobling *et al.*, 1993; Yao *et al.*, 1994; Toguyeni *et al.*, 1996; Collins & Anderson, 1999; Coward & Bromage, 1999; Bromley *et al.*, 2000; Carvalho, 2001). Os estudos diferem bastante quanto ao sexo do peixe, à severidade e duração da restrição de alimento, o que pode ser uma das causas das diferenças encontradas.

Pouco se conhece sobre os efeitos do manejo alimentar no processo, principalmente de espécies tropicais.

O gênero *Brycon* possui grande quantidade de espécies importantes do ponto de vista comercial (Howes, 1982), dentro as quais se destaca o matrinxã (*Brycon cephalus*), originário da bacia Amazônica e cujas características de crescimento, adaptação ao cativeiro e qualidade da carne, o tornam um potencial candidato para ser usado em piscicultura (Junqueira & Colares, 1994; Scorvo-Filho *et al.*, 1998). Além disso, segundo Castagnolli (1992), a única maneira de se estabelecer apropriadamente um cultivo de qualquer espécie é garantir sua reprodução em cativeiro, em grande escala e a preço viável. A forma de atingir estes objetivos é investigar a biologia reprodutiva da espécie, além de tentar diminuir despesas, fato possível pela utilização de estratégias alimentares econômicas, como a diminuição da quantidade de ração utilizada, o que também ajudaria a diminuir a poluição pelos efluentes resultantes.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da restrição alimentar moderada e alternada (3 dias de alimentação seguidos de 2 dias de restrição) imposta a machos de matrinxã (*Brycon cephalus*) nos 3 meses que precedem a reprodução da espécie sobre suas características seminais e desempenho reprodutivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1 Animais e instalações

O trabalho foi desenvolvido no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Jaboticabal-SP, durante o período de setembro a novembro de 2000.

Foram utilizados 40 machos adultos de *Brycon cephalus*, provenientes da Fazenda Ouro Verde, Mogi Guaçu-SP, distribuídos 4 em viveiros de terra de 40 m² (2 por tratamento) a uma densidade de estocagem de 1 peixe/3 m². A média de peso foi 990,5 ± 13,2 g para o grupo 1 e 1370 ± 21,8 g para o grupo 2. Após um período de adaptação de 15 dias, os animais começaram a receber os tratamentos.

2. 2 Tratamentos

Uma vez formados os grupos, controle (G1) e experimental (G2), os peixes foram submetidos aos seguintes tratamentos: os machos do G1 receberam ração diariamente *ad libitum*; enquanto que os do G2 foram alimentados de forma alternada, com 3 dias de alimentação e 2 dias de restrição. Os peixes do grupo experimental recebiam a mesma quantidade de alimento do grupo controle para evitar ingestão compensatória. A restrição foi aplicada durante os três meses anteriores à indução. Nessa época, foram selecionados 7 indivíduos de cada grupo para serem induzidos à reprodução.

2. 3 Indução à reprodução e coleta do material

Os indivíduos selecionados foram transferidos para o Laboratório de Reprodução do CAUNESP e induzidos com extrato pituitário de carpa (EPC), na dose de 1,0 mg kg⁻¹. Após 150 horas/grau, os machos foram individualmente anestesiados com benzocaína (1g 10L⁻¹) para coleta do fluido seminal em tubos graduados estéreis. Uma porção foi coletada em tubos capilares para determinação do espermatócrito (Billard, 1995). O volume foi medido diretamente no tubo (Silveira *et al.*, 1985), enquanto que os capilares foram centrifugados a 8500 rpm, durante 5 minutos, para leitura do espermatócrito. Posteriormente, foi feita a análise microscópica do material e avaliadas a motilidade (Salisbury & Vandermark, 1964), porcentagem de células vivas e mortas (Blom, 1950) e

concentração espermática em câmara de Neubauer (Billard & Cosson, 1992). A quantificação da motilidade espermática foi feita na hora da coleta, enquanto que a porcentagem de células vivas e mortas se realizou posteriormente pela coloração de eosina-nigrosina. Para a determinação da concentração espermática, o sêmen foi fixado com formol salino (diluição 1:1000).

2. 4 Teste de fertilização

Com o sêmen obtido, foi feito um teste de fertilização, para o qual foram utilizados óvulos de uma fêmea alimentada diariamente e induzida com EPC. Quatorze porções de óvulos da mesma fêmea com 7g cada, foram fertilizadas com 1 ml de sêmen de cada um dos machos utilizados e os ovos incubados em caixas plásticas com 20 L de água e aeração constante, a uma temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$. A porcentagem de fertilização foi calculada 7 horas pós-fertilização.

2. 5 Taxa de eclosão e larvicultura

A porcentagem de eclosão foi calculada em todas as incubadoras e as larvas obtidas foram acompanhadas até a reabsorção do saco vitelino, sendo coletadas 10 larvas, por amostragem, a cada 24 horas durante 3 dias, e fixadas em formol (10%) para medição de peso (balança Sartorius® BP211D, precisão 0,01 mg) e comprimento (microscópio estereoscópio Karl Zeiss, com ocular micrométrico).

2. 5 Análise estatística

Para análise estatística dos dados macro e microscópicos do sêmen foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado e para o crescimento inicial das larvas o delineamento foi em parcelas subdivididas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita pelo software SAS (6.12). Além disso, para as variáveis concentração espermática e espermatócrito foi feita uma regressão linear para, através do coeficiente de determinação (R^2), estabelecer a correlação entre as duas.

3. RESULTADOS

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, foi constatado que as características do sêmen foram semelhantes nos dois grupos estudados, exceto com relação ao volume, cujas médias foram significativamente maiores no grupo de animais submetidos à restrição alimentar. A regressão linear feita para as variáveis espermatócrito e concentração espermática apresentou uma correlação positiva imperfeita nos dois grupos ($R^2 = 0,9256$ para os machos do G1 e $R^2 = 0,9193$ para os machos do G2). O coeficiente de Pearson foi 0,9621 e 0,9588, respectivamente.

Tabela 1. Médias* $\pm$ desvio padrão das características seminais de matrinxãs alimentados diariamente (G1) e submetidos a restrição alimentar (G2).

Tratamento	Volume		Concentração	Espermatócrito	Células Vivas
	(ml)	Motilidade	(Cél * $10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	(%)	(%)
G1	$6,14 \pm 1,11^b$	$5,00^a$	$6,79 \pm 1,16^a$	$13,07 \pm 1,99^a$	$96,35 \pm 0,36^a$
G2	$9,29 \pm 3,11^a$	$5,00^a$	$6,65 \pm 1,37^a$	$13,86 \pm 2,87^a$	$96,95 \pm 0,87^a$
CV (%)	30,24	0,00	18,92	18,33	0,69

* n = 7

CV = coeficiente de variação.

Médias com letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferenças significativas (teste de Tukey, 5%)

Quanto às taxas de fertilização e eclosão, não houve diferença significativa entre os tratamentos, como mostra a Figura 1.

Durante as 72 horas de larvicultura, o peso e comprimento das larvas dos 2 tratamentos não apresentaram diferenças significativas (Tabela 2). Porém, ao longo do tempo, ficou evidente uma diferença significativa entre as médias de cada grupo, indicando que as larvas apresentaram um aumento uniforme tanto em peso quanto em comprimento através do tempo, em ambos os tratamentos (Figuras 2 e 3).

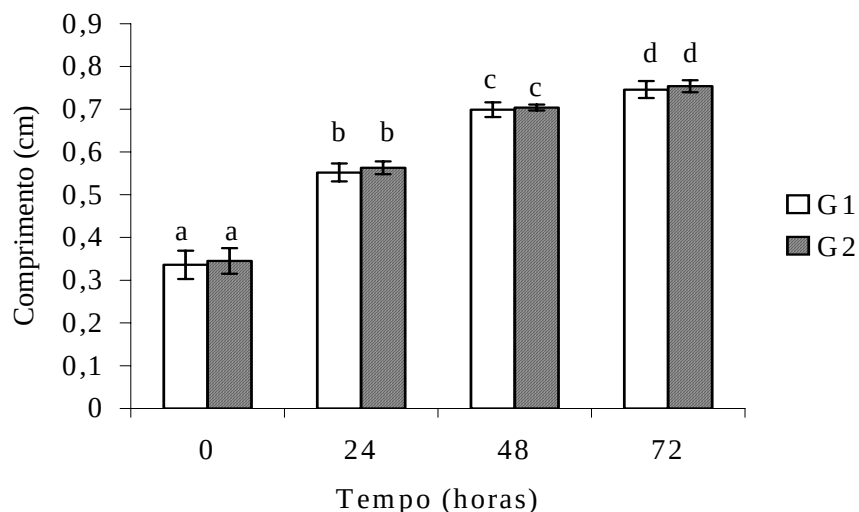


Figura 1. Valores médios das taxas de fertilização e de eclosão (%) $\pm$ desvio padrão nos tratamentos: alimentação diária ($\square$) e restrição alimentar ($\blacksquare$). Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). $n = 7$ para cada grupo

Tabela 2. Médias* $\pm$ desvio padrão do peso (mg) e comprimento (cm) das larvas obtidas após fertilização com sêmen de matrinxãs alimentados diariamente (G1) e submetidos a restrição alimentar (G2) nas diferentes amostragens.

Tratamento		Horas de Cultivo			
		0	24	48	72
Peso	G1	0,469 $\pm$ 0,075 ^a	0,850 $\pm$ 0,023 ^b	1,631 $\pm$ 0,271 ^c	1,979 $\pm$ 0,260 ^d
	G2	0,417 $\pm$ 0,028 ^a	0,961 $\pm$ 0,047 ^b	1,571 $\pm$ 0,305 ^c	1,924 $\pm$ 0,112 ^d
CV (%)	15,15				
Comprimento	G1	0,336 $\pm$ 0,033 ^a	0,552 $\pm$ 0,021 ^b	0,699 $\pm$ 0,017 ^c	0,746 $\pm$ 0,020 ^d
	G2	0,345 $\pm$ 0,030 ^a	0,563 $\pm$ 0,015 ^b	0,704 $\pm$ 0,007 ^c	0,754 $\pm$ 0,014 ^d
CV (%)	3,62				

* Médias obtidas de 10 larvas provenientes de cada caixa, em cada tratamento ($n = 70$)

CV = coeficiente de variação

Para cada parâmetro, médias seguidas de letras iguais nas linhas não apresentam diferenças significativas (teste de Tukey, 5%)

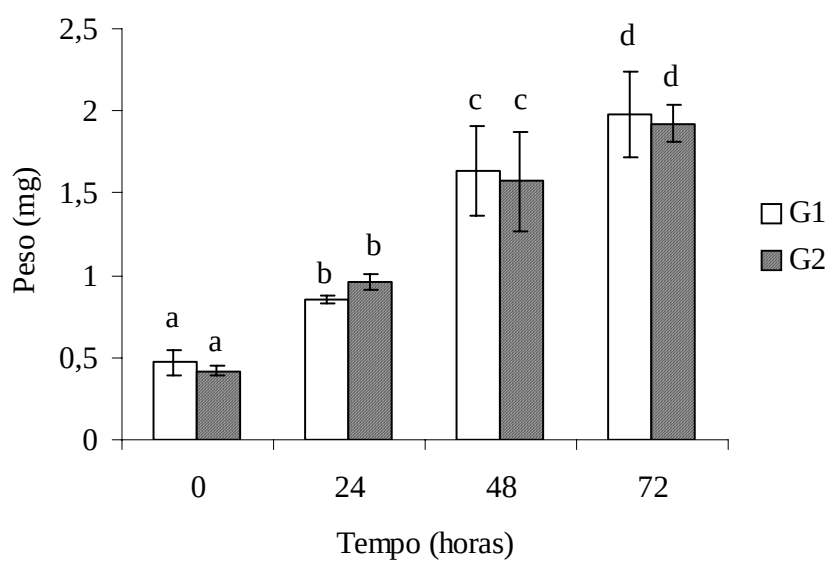


Figura 2. Médias do peso $\pm$ desvio padrão das larvas de matrinxã alimentados diariamente (G1) e submetidos a restrição alimentar (G2). Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). $n = 70$ para cada tempo em cada grupo.

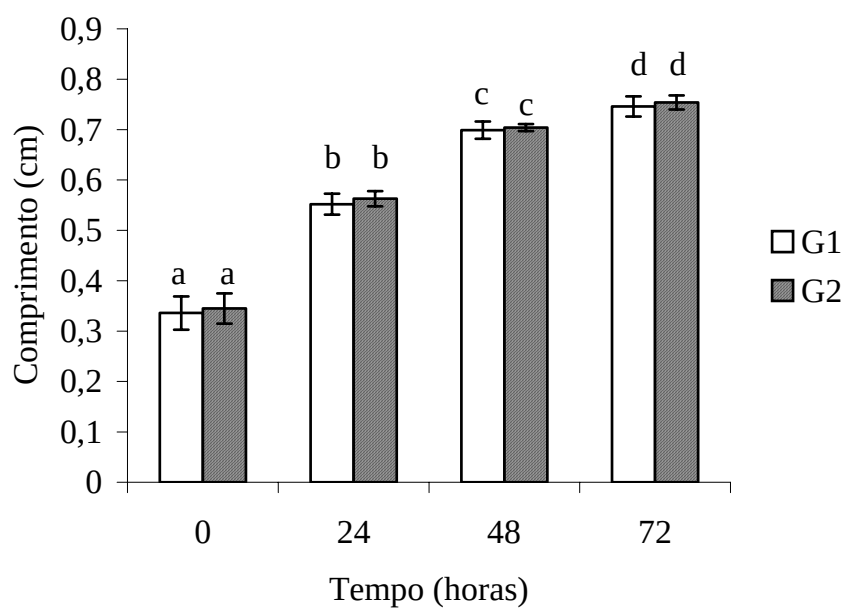


Figura 3. Médias do comprimento $\pm$ desvio padrão das larvas de matrinxã alimentados diariamente (G1) e submetidos a restrição alimentar (G2). Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). $n = 70$ para cada tempo em cada grupo.

4. DISCUSSÃO

A restrição alimentar moderada e alternada imposta a machos de matrinxã (*Brycon cephalus*), no período de maturação dos gametas, não afetou o seu desempenho reprodutivo, avaliado através das características seminais, de testes de fertilização e eclosão e pelo crescimento inicial das larvas.

Os resultados disponíveis sobre machos ainda são contraditórios. Enquanto alguns estudos relatam prejuízos na maturação de machos submetidos à restrição de alimentos (Thorpe *et al.*, 1990; Reimers *et al.*, 1993; Berglund, 1995; Hopkins & Unwin, 1997; Everson *et al.*, 2000; Bromley *et al.* 2000), outros reforçam os dados do presente experimento, como os realizados em machos de *Salvelinus alpinus* (Jobling *et al.*, 1993; Rice & Burton, 2000). Uma explicação para as diferenças encontradas poderia ser o tempo e a severidade da restrição aplicada, além de que são espécies diferentes. Entretanto, a ausência de influência da privação alimentar pode estar ligada, em parte, ao fato dos animais estarem sadios e bem nutridos no início do experimento. Segundo Burton (1994), na fase de maturação gonadal final da espécie *Pleuronectes americanus*, o estado nutricional do peixe foi mais importante que a quantidade de alimento fornecida. Izquierdo *et al.* (2001) sugerem que reprodutores com bom estado nutricional apresentam melhor desempenho na reprodução, enquanto que animais com deficiências nutricionais geralmente reduzem seu potencial reprodutivo. Sabe-se que, durante a migração reprodutiva dos peixes reofílicos, incluindo-se o matrinxã, ocorre escassez ou ausência de alimento, sem que isto afete negativamente o desempenho dos reprodutores. Estes períodos geralmente ocorrem na última fase de maturação dos gametas quando os comportamentos alimentares são dependentes das oscilações hidrológicas da região (Silva, 1985), tal como foi comprovado no matrinxã por Zaniboni-Filho (1985), por Borges (1986) e por Pizango-Paima (1997), que encontraram maior número de estômagos vazios na época de enchente, durante a migração. No presente experimento, com animais cultivados, não ocorre migração reprodutiva, embora o processo de maturação dos gametas tenha alto custo energético a ser coberto pela alimentação. Contudo, ainda existe controvérsia sobre o efeito que a restrição possa ter no sucesso reprodutivo dos peixes.

Muitos pesquisadores concordam que, nas fêmeas, o investimento energético para reprodução é muito maior do que nos machos (Silverstein & Shimma, 1994; Imsland *et al.*, 1997; Duston & Saunders, 1999; Bromley *et al.*, 2000), fato que poderia explicar os

resultados obtidos no presente estudo, embora alguns autores afirmem que a restrição também não teria influência negativa nas fêmeas, reforçando que os peixes possuem capacidade de utilizar mecanismos compensatórios para se adaptar à restrição de alimento (Yao *et al.*, 1994; Coward & Bromage, 1999; Carvalho, 2001).

Das características seminais analisadas, a única que apresentou diferenças significativas entre os grupos foi o volume, sendo maior no grupo de machos restritos, resultados que discordam dos citados por Williams (1999), segundo o qual a restrição alimentar pode causar contínuas alterações na função dos testículos com efeito negativo na massa testicular e na saída do sêmen. A resposta encontrada pode estar relacionada ao bom estado nutricional dos machos, anterior ao início da restrição de alimento, acrescido da habilidade compensatória do peixe de melhor utilização dos nutrientes, quando exposto a alguma condição de adversidade (Yao *et al.*, 1994; Coward & Bromage, 1999; Carvalho, 2001). Isto poderia potencializar respostas biológicas do animal, como a produção de sêmen, no sentido de evitar algum prejuízo no processo reprodutivo. As médias de volume de sêmen em ambos os grupos foram superiores às relatadas por Silveira (2000), para a mesma espécie. No entanto, a concentração espermática foi menor que a citada pelo referido autor.

Os valores de R encontrados na regressão linear ($G1 = 0,962$ e $G2 = 0,958$), para correlacionar a contagem celular com o espermátocrito, evidenciaram a eficácia de ambas as metodologias na avaliação da concentração espermática, como aconteceu em outras espécies de peixes (Billard *et al.*, 1980; Piironen, 1985; Silveira *et al.*, 1985; Munkittrick & Moccia, 1987; Fogli da Silveira *et al.*, 1990; Ciereszko & Dabrowski, 1993; Kavamoto *et al.*, 1996). Isto pode indicar que apenas uma técnica seria suficiente na avaliação do parâmetro, facilitando o trabalho para quem não têm acesso a 2 equipamentos de análise. Adicionalmente, o uso rotineiro do espermátocrito, para simplificar a avaliação da concentração espermática no laboratório ou em condições de campo, tem sido recomendado (Fogli da Silveira *et al.*, 1990). Por outro lado, embora Rakitin *et al.* (1999) não tenham encontrado correlação entre as duas variáveis, eles afirmam que a utilização do espermátocrito é uma ferramenta confiável na determinação da densidade espermática, independentemente de alterações no tamanho das células.

As taxas de fertilização e de eclosão também não foram afetadas pela restrição alimentar e, em ambos os grupos, foram maiores que as reportadas por Silveira (2000) e Andrade (2002), nessa mesma espécie. Não há registro na literatura sobre efeitos da

restrição nestes parâmetros, mas a redução da alimentação à metade, por 6 meses, atrasou a época da desova de *Dicentrarchus labrax* (Cerdá *et al.*, 1994).

Do mesmo modo, o peso e comprimento das larvas não foram influenciados pela restrição alimentar, dados que não concordam com aqueles obtidos em *Dicentrarchus labrax*, em que a restrição à metade, na quantidade de alimento oferecido, durante 6 meses, levou a menor crescimento das larvas em relação às provenientes de peixes alimentados à vontade (Cerdá *et al.*, 1994). Os dados obtidos com matrinxã reforçam a indicação de que os machos, embora estivessem passando por um período de intensa mobilização energética, para a maturação dos gametas, foram capazes de acionar mecanismos compensatórios, durante o período de realimentação buscando a homeostase fisiológica frente à restrição alimentar imposta, do mesmo modo que as fêmeas (Carvalho, 2001), em esquema alimentar semelhante e por tempo mais longo.

O fato dos peixes, em seu ambiente natural, estarem sujeitos à ausência ocasional de alimentos, os capacitou a desenvolver estratégias bioquímicas e hormonais (Mommsen & Plisetskaya, 1991), necessárias e suficientes para buscar e atingir o equilíbrio orgânico e a preservação de funções biológicas. Esta capacidade já foi observada em peixes tropicais, como por exemplo, em *Piaractus mesopotamicus* que apresentou crescimento compensatório, após 60 dias de restrição alimentar (Souza *et al.*, 2000), e, em *Brycon cephalus*, nos quais não houve alteração no metabolismo energético e desenvolvimento gonadal após um ano de restrição de alimento, em esquema de alternância com períodos de realimentação (Carvalho, 2001). Os efeitos metabólicos e hormonais positivos verificados podem ser, em parte, explicados por ação da insulina, hormônio anabólico, secretado após a ingestão de alimento (Mommsen & Plisetskaya, 1991) durante a re-alimentação dos matrinxãs, que estaria atuando, indiretamente, na maior utilização dos nutrientes ingeridos e fornecimento de substrato energético para o processo reprodutivo ou, diretamente, através de ação em nível gonadal. Já existem evidências de efeito esteroideogênico da insulina nas gônadas de humanos (Geisthovel *et al.*, 1990; Hammond *et al.*, 1991) e peixes (Srivastava & Van Der Kraak, 1994; Urbinati *et al.*, 1997), além da presença de receptores de insulina em ovários de diferentes peixes durante a época reprodutiva (Gutiérrez *et al.*, 1993; Maestro *et al.*, 1997; Maestro *et al.*, 1999).

Os dados deste trabalho sugerem portanto que a restrição alimentar, da forma como foi imposta, pode ser utilizada no cultivo do matrinxã, proporcionando menor custo de produção sem aparentes prejuízos biológicos, no potencial reprodutivo da espécie.

BIBLIOGRAFIA

- Andrade, F. L. Desenvolvimento inicial de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* sob efeito do cortisol. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP., 2002.
- Berglund, I. Effects of spring temperature and feeding regime on sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) male parr. Fifth International Symposium Reproductive Physiology of Fish. p 170. Austin. U.S.A., 1995.
- Billard, R. & Marcel, P. Stimulation of spermiation and induction of ovulation in pike (*Esox lucius*). Aquaculture. v. 21, (2), p. 181-195, 1980.
- Billard, R. & Cosson, M. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J. Exper Zool. v. 261, p. 122-131, 1992.
- Billard, R. Sperm physiology and quality. In: Bromage, N.R.; Roberts, R.J. Broodstock management and egg larval quality. Oxford, Blackwell Science, p.25-51, 1995.
- Blom, E. A one minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin. Fert and Ster. v. 2, p. 176-177, 1950.
- Borges, G. A. Ecologia de três espécies do gênero *Brycon* (Muller-Troschel, 1844) (Pisces-Characidae) no rio Negro Amazonas, com ênfase na caracterização taxonômica e alimentação. Dissertação, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, Universidade do Amazonas, 1986.
- Bromley, J.; Ravier, C. & Withames, P. The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. J. Fish Biol. v.56, p.264-278, 2000.
- Burton, M.P.M. A critical period for nutritional control of early gametogenesis in female winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Pisces: TELEOSTEI) J. Zool. London, v.233, p. 405-415, 1994.
- Carvalho, E.G. Redução na oferta de ração: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, TELEOSTEI: Characidae) em cativeiro. Tese, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP, 2001.
- Castagnolli, N. Criação de peixes de água doce. Jaboticabal: FUNEP. 1992. 189p.
- Cerdá, J.; Carillo, M. & Ramos, J. Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. Aquat. Living Resour. v.7, p. 255-256, 1994.
- Cierszko, A. & Dabrowsky, K. Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. Aquaculture v.109, p 367-373, 1993.

- Collins, A. & Anderson, T. The role of food availability in regulating reproductive development in female golden perch. *J. Fish Biol.* v. 55, p. 94-104, 1999.
- Coward, K. & Bromage, N.R. Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first-feeding to sexual maturity *Aquat. Living Resource.*, v. 12(1), p.11-22, 1999.
- Duston, J. & Saunders, R.L. Effect of winter food deprivation on growth and sexual maturity of Atlantic salmon (*Salmo salar*), in seawater. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 56, p. 201-207, 1999.
- Everson, K.; Kock, H. & Ellison, J. Inter-annual variation in the gonad cycle of the mackerel icefish. *J. Fish Biol.* v. 57 (supplement A), p. 103-111, 2000.
- Fogli da Silveira, W.; Kavamoto, E.; Cestarolli, M.; Godinho, H.; Ramos, S. & Silveira, A. Avaliação espermática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), proveniente de reprodução induzida. *B. Inst. Pesca.* v. 17(único), p. 1-13, 1990.
- Geistovet, F.; Maretti-Rojas, F. & Asch, R. Insulin-like growth factors and thecal-granulosa-cell function. *Human Reprod.* v.5, p.785-799, 1990.
- Gutiérrez, J.; Párrizaz, M.; Carneiro, N.; Maestro, M. & Planas, J. Insulin and IGF-I receptors and tyrosine kinase activity in carp ovaries: changes with reproductive cycle. *Fish Physiol. Biochem.* v. 11, p. 247-254, 1993.
- Hammomnd, J.; Mondschein, J.; Samaras, S. & Cannings, S. The ovarian insulin-like growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* v. 40, p. 411- 416, 1991.
- Henderson, B;Trivedi, T & Collins. N. Annual cycle energy allocation to growth and reproduction of yellow perch. *J. Fish Biol.* v. 57, p. 122-133, 2000.
- Hopkins, C. & Unwin, M. The effect of restricted springtime feeding on growth and maturation of freshwater-reared chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquacult. Res.* v. 28, p. 545-549, 1997.
- Howes, G. Review of genus *Brycon* (Teleostei, Characoidei). *Bull. Brt. Mus. Nat. Hist. (Zool.)*, v. 43 (1), p. 1- 47, 1982.
- Imsland, A.; Flokvord, A.; Grung, G.; Stefansson, S. & Taranger, G. Sexual dimorphism in growth and maturation of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquacult. Res.* v. 28, p. 101-114, 1997.
- Izquierdo, M.; Fernández-Palacios, H. & Tacon, A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, v. 197, p. 25- 42, 2001.

- Jobling, M.; Jørgensen, E. & Siikavuopio, S. The influence of previous feeding regime on the compensatory growth response of maturing and immature Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. J. Fish Biol. v. 43, p. 409 - 419, 1993.
- Junqueira, J. & Colares, J. Anais do I Seminário sobre criação de espécies do gênero Brycon, Pirassununga: CEPTA. 1994.
- Kavamoto, E. & Fogli da Silveira, W. Características físicas químicas e microscópicas do sêmen do bagre *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1849) em condições de campo. B. Inst. Pesca. v. 13 (1), p. 95-100, 1986
- Mackenzie, D.; Vanputte, C. & Leiner, K. Nutrient regulation of the endocrine function in fish. Aquaculture. v.161, p.3-25, 1998.
- Maestro, M.; Mendez, E.; Planas, J. & Gutiérrez, J. Dynamics of insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-I) ovarian receptors during maturation in the brown trout (*Salmo trutta*). Fish Physiol. Biochem. v. 20, p. 341-349, 1999.
- Maestro, M.; Planas, J.; Moriyama, S.; Gutiérrez, J. & Swanson, P. Ovarian receptor for insulin and isuline-like growth factors and effects of steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. Gen. Comp. Endocrinol. v. 106, p. 189-201, 1997.
- Mommsen, T. & Plisetskaya, E. Insulin in fishes and agnathans: History, structure and metabolic regulation. Rev. Aquat. Sci. v. 4, p. 225-259, 1991.
- Munkittrick, K & Moccia, R. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility volume and seminal plasma constituents. Aquaculture. v. 64, p. 147-156, 1987.
- Piironen, J. Variation in the properties of milt from the finnish landlocked salmon (*Salmo salar* M. Sebago Girard) during a spawning season. Aquaculture. v. 48, p. 337-350, 1985.
- Pizango-Paima, E. G. Estudo da alimentação e composição corporal do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Characiformes, Characidae) na Amazônia central. Dissertação, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, Universidade do Amazonas, 1997.
- Rakitin, A; Ferguson, M & Trippel, E. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season. Aquaculture. v. 170, p. 349-358, 1999.
- Reimers, E.; Kjørrefjord, A. & Stavóstrand, S. Compensatory growth and reduced maturation in second sea winter farmed Atlantic salmon following starvation in February and March. J. Fish Biol. v. 43, p. 805-810, 1993.
- Rice, C & Burton, M. Histological evidence supporting the two critical period model of sexual maturity in males salmonids. 6 Int. Symp. On the Reproductive physiology of fish. Bergen (Norway), 4-9 Jul, p 253, 2000.

Comentario [m1]:

- Ridelman, J.; Hardy, R. & Brannon, E. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*. v. 37, p. 133-140, 1984.
- Salisbury, G. & Vandermark, N. Fisiologia de la reproducción y de inseminación artificial de los bovidos. Zaragoza, Acribia, p. 707, 1964.
- Sasayama, Y. & Takahashi, H. Effect of starvation and unilateral astration in male goldfish *carassios auratus*, and a desng of bioassay for fish gonadotropin using starved goldfish. *Bull.Fac. Fish, Hokkaido Univ.* v. 22, p. 267-283, 1972.
- Scorvo-Filho, J.; Martins, N. & Ayrosa, L. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*. v. 28, p. 41-60, 1998.
- Silva, A. J. Aspectos da ailmentação do pacu adulto, *Colossoma mitrei* (Berg, 1985) (Pisces, Characidae) no pantanal de mato Grosso. Dissertação, Univesidade Federal do Rio de Janeiro. 1985.
- Silveira, A. Caracterização espermática, preservação criogênica do semen e fertilidade do matrinxã *Brycon cephalus* (Günter, 1860). Dissertação – Instituto de Biociencias de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 2000.
- Silveira, W.; Kavamoto, E. & Narahara, M. Avaliação da qualidade e criopreservação em forma de “pellets” do sêmen de bagre *Rhamdia hilarii* Valenciennes, 1841. *B. Inst Pesca*. v. 12, p. 7-11, 1985.
- Silveira, W.; Kavamoto, E.; Rigolino, M. & Carvalho Filho, A. O espermatócrito para avaliar a concentração de espermatozóides da truta arco-iris *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst Pesca*. v. 12(3), p. 105-108, 1985.
- Silverstein, J. & Shimma, H. Effect of restricted feeding on early maturation in female and male amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae*. *J. Fish Biol.* v.45, p.1133-1135, 1994.
- Souza, V. L.; Gonçalves, E. O. & Urbinati, E. C. Effects of food restriction and refeeding on energy stores and grow of pacu, *Piaractus mesopotamcus* (Characidae). *J. Aquac. Trop.* v. 15 (4), p. 371-379, 2000.
- Srivastava, R. & Van Der Kraak, G. Insulin as an amplifier gonadotropin action on steroid production: Mechanism and sites of action in goldfish prematurational full-grown ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 95, p. 60-70, 1994.
- Toguyeni, A; Baroiller, J; Fostier, A; Le Bail, P.; Kühn, E.; Mol, K. & Fauconneau, B. Consequences of food restriction on short-term growth variation and plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 103, p. 167-175, 1996.

- Thorpe, J.; Talbot, C.; Miles, M. & Keay, D. Control of maturation in culture Atlantic salmon, *Salmo salar*, in pumped seawater tanks, by restricting food intake. *Aquaculture*. v. 86, p.315-326, 1990.
- Urbinati, E.; Garutti, M. & Santos, H. A case report on hyperandrogenism in juvenile fish under insulin treatment. *Braz. J. Morph. Sci.* v. 14 (1), p. 37-38, 1997.
- Williams, G. Nutritional factors and reproduction. In: *The Reproduction*. Academic Press New York U.S.A. p. 412-502, 1999.
- Yao, S.; Umino, T. & Nakagawa, H. Effect of feeding frequency on lipid accumulation in ayu. *Fish. Sci.* v. 60 (6), p. 667-671, 1994.
- Zaniboni-Filho, E. Biologia da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther 1869) (Teleostei: Characidae). Dissertação. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, Universidade do Amazonas, 1985.

CAPÍTULO III

RESTRIÇÃO ALIMENTAR DURANTE O CICLO
DE MATURAÇÃO GONADAL DO MATRINXÃ
(*Brycon cephalus*) E EFEITOS SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E
DESEMPENHO REPRODUTIVO

RESUMO

O objetivo do presente experimento foi avaliar o efeito da restrição alimentar moderada e alternada, aplicada a machos de matrinxã *Brycon cephalus*, durante oito meses antes da desova, sobre a maturação gonadal, as características seminais e o desempenho reprodutivo. Machos adultos foram separados nos grupos controle (G1) e experimental (G2) e distribuídos em 8 viveiros de terra. Os peixes do G1 receberam ração diariamente *ad libitum*, enquanto que os do G2 foram alimentados de forma alternada, com 3 dias de alimentação e 2 dias de restrição, durante oito meses (março a novembro de 2001). Durante a re-alimentação, os peixes do grupo experimental receberam a mesma quantidade de alimento oferecida ao grupo controle, para evitar ingestão compensatória. Foram utilizados 32 indivíduos, sendo induzidos para reprodução aqueles que apresentavam sêmen no momento da seleção nos viveiros (11 restritos e 14 normais). Os 7 restantes (2 normais e 5 restritos) foram sacrificados para retirada e pesagem das gônadas e fígado, para cálculo de IGS (índice gonadossomático), IHS (índice hepatossomático) e histologia das gônadas. A indução à reprodução foi feita com extrato pituitário de carpa (EPC), em dose de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Após 150 horas/grau, os machos foram anestesiados com benzocaína ($0,1 \text{ g x L}^{-1}$) e coletado o fluido seminal de cada indivíduo, mediante massagem abdominal. Imediatamente, foi medido o volume extrusado e foi coletado sêmen em tubos capilares para determinação do espermátócrito. Posteriormente, foi feita a análise microscópica do material e avaliados a motilidade, atividade espermática, porcentagem de células vivas e mortas, pH, temperatura, osmolaridade e concentração espermática em câmara de Neubauer. Logo depois, foi feito um teste de fertilização, utilizando óvulos de uma fêmea normal, induzida com EPC, cujos óvulos foram divididos em 25 alíquotas, fertilizados com sêmen de cada um dos machos utilizados no estudo e incubados em caixas plásticas com 20 L de água e aeração constante. A porcentagem de fertilização foi registrada 7 horas pós-fertilização. A porcentagem de eclosão também foi medida e as larvas obtidas foram mantidas até reabsorção do saco vitelino (72 horas pós-eclosão). Em intervalos de 12 horas, foram coletadas 10 larvas de cada incubadora e fixadas em formol (10%), para medir o peso e o comprimento.

Os resultados obtidos mostraram que o volume espermático do grupo submetido à restrição alimentar foi menor ($8,06 \pm 4,32$ ml) do que os alimentados diariamente ($12,58 \pm 4,52$ ml), enquanto a motilidade foi semelhante nos dois grupos ($4,65 \pm 0,93$ em G1 e $4,63 \pm 0,50$ em G2), assim como a atividade espermática ($76,79 \pm 37,92$ seg em G1 e $75,18 \pm 29,66$ seg em G2). A concentração espermática teve valores de $4,60 \pm 1,18$ e $4,76 \pm 1,86$ cél $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ em G1 e G2, respectivamente, e o espermatócrito apresentou valores de $9,43 \pm 2,33$ % para G1 e de $10,36 \pm 3,91$ % para G2. O número de células vivas foi similar nos dois grupos ($95,22 \pm 4,00$ em G1 e $96,95 \pm 1,22$ % em G2), enquanto os valores de osmolaridade, pH e temperatura do sêmen em G1 foram $260,86 \pm 27,49$ mOsmol Kg^{-1} ; $7,8 \pm 0,10$ e $28,85 \pm 0,40$ °C, e em G2 de $260,32 \pm 24,11$ mOsmol Kg^{-1} ; $7,87 \pm 0,10$ e $28,71 \pm 1,22$ °C, respectivamente. Por outro lado, as taxas de fertilização ($76,31 \pm 16,06$ em G1 e $68,30 \pm 20,21$ em G2) e de eclosão ($77,85 \pm 14,87$ % em G1 e $74,01 \pm 16,52$ % em G2) também foram similares nos dois grupos. Com relação aos índices somáticos, também não houve diferença entre os grupos (G1: $0,287 \pm 0,106$ e G2: $0,468 \pm 0,216$ para IGS e G1: $1,012 \pm 0,143$ e G2: $1,187 \pm 0,258$ para IHS). Já na análise histológica, foi possível observar nos peixes do G1 características próprias do estágio de maturação inicial, com predominância de espermatogônias e grande quantidade de cistos de espermatócitos. No G2 houve presença de indivíduos em maturação final ou maduros, observando-se nos primeiros, alguns cistos de espermatozóides e nos restantes foi evidente o rompimento dos cistos ao lúmen. Por outro lado, as taxas de fertilização ($76,31 \pm 16,06\%$ em G1 $68,30 \pm 20,21\%$ em G2) e de eclosão ($77,85 \pm 14,87\%$ em G1 e $74,01 \pm 16,52\%$ em G2) também foram similares nos dois grupos. Quanto ao peso e comprimento das larvas, as médias obtidas às 72 horas de cultivo também não apresentaram diferenças significativas (G1: $1,183 \pm 0,214$ mg e $0,650 \pm 0,011$ cm; G2: $1,265 \pm 0,137$ mg e $0,652 \pm 0,009$ cm)

Os resultados mostraram que, com exceção do volume espermático diminuído nos peixes sob restrição alimentar, o manejo adotado durante 8 meses não afetou a maioria das características seminais nem o desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, o que permite sugerir que esquema de restrição alimentar seguido de realimentação como o utilizado nesta pesquisa, pode ser adotado no cultivo da espécie.

ABSTRACT

The aim of this experiment was to assess the effect of moderate and alternate feeding restriction, imposed to males of matrinxã (*Brycon cephalus*), during 8 months preceding the spawning, on the seminal characteristics and reproductive performance. Adult males were separated into control (G1) and experimental (G2) groups and distributed in 8 earthen ponds. G1 fish fed daily *ad libitum* and G2 fish were alternately feeding restricted (feeding 3 for days and starving 2 for days) during 8 months preceding the reproduction (from March to November 2001). At the re-alimentation the food amount offered to G2 fish was the same offered to G1 fish to avoid compensatory intake. At the reproduction, 32 males were selected. Those presenting semen at abdominal pressure (14 fed daily and 11 food restricted) were hormonally induced. The remainders (2 fed daily and 5 food restricted) were killed and gonads and liver collected and weighed for GSI (gonad somatic index) and HIS (hepatic somatic index) calculation and gonadal histology. The spawning was induced with carp pituitary extract (1mg kg^{-1})

After 150 hours/degree, the males were anesthetized (benzocaine, 0.1g/L^{-1}) and semen from each fish were collected by abdominal massage to measure the volume and the spermatocrit in capillary tubes. After that, the cell motility, spermatoc activity, number of live cells, cell concentration in Neubauer Chamber, semen pH, temperature and osmolarity were determined. Following, a fertilization test was performed, utilizing oocytes from one single female fed daily and CPE induced. Oocytes were divided into 25 samples and fertilized with semen from Every male individually. They were incubated in 20L plastic boxes under constant water aeration. Fertilization rate was determined 7 h after fertilization. Hatching rate was also registered and larvae were observed until the yolk sac resorption (72 h after hatching). At each 12 h, 10 larvae from each incubator were collected and fixed in 10 % formaldehyde to weight and length measurement.

The results showed that milt volume of the food-restricted fish was lower ($8.06 \pm 4.32\text{ ml}$) than that of the daily fed fish ($12.58 \pm 4.52\text{ ml}$). Motility was similar in both groups (4.65 ± 0.93 in G1 and 4.63 ± 0.50 in G2), as well as spermatoc activity ($76.79 \pm 37.92\text{ seg}$ in G1 and $75.18 \pm 29.66\text{ seg}$ in G2). Spermatoc concentration were 4.60 ± 1.18 and $4.76 \pm 1.86\text{ cell} \times 10^6\text{ }\mu\text{L}^{-1}$ in G1 and G2, respectively, and spermatocrit was

9.43 $\pm$ 2.33 in G1 and 10.36 $\pm$ 3.91 % in G2. The number of live cells was similar in both groups (95.22 $\pm$ 4.00 in G1 and 96.95 $\pm$ 1.22 % in G2), while the osmolarity, pH and temperature values for G1 were 260.86 $\pm$ 27.49 mOsmol Kg⁻¹, 7.8 $\pm$ 0.10 and 28.85 $\pm$ 0.40 °C) and for G2 260.32 $\pm$ 24.11 mOsmol Kg⁻¹, 7.87 $\pm$ 0.10 and 28.71 $\pm$ 1.22 °C, respectively. Therefore, fertilization rate (76.31 $\pm$ 16.06 % in G1 and 68.30 $\pm$ 20.21 % in G2) and hatching rate (77.85 $\pm$ 14.87 % in G1 and 74.01 $\pm$ 16.52% in G2) were also similar in both fish groups. GSI (0.287 $\pm$ 0.106 % in G1 and 0.468 $\pm$ 0.216 % in G2) and HSI (1.012 $\pm$ 0.143 % in G1 and 1.187 $\pm$ 0.258 % in G2) were also similar in both groups. Regarding histological analyzes, it was possible to observe in G1 fish characteristics of initial maturation with spermatogonias predominance and great amount of spermatocytes cysts. In G2 there was individuals on final maturation or ripe, being observed in the first ones some cysts of spermatozooids and in the remaining ones breakdown of cysts in lumen. Larval weight and length were also similar in both groups in the different sampling times.

The results showed that, except for the diminished milt volume in the food restricted fish, the feeding scheme imposed to the males during 8 months preceding the spawning did not affect most of their seminal characteristics and the reproductive performance, permitting to indicate the tested feeding handling in the culture of the species.

1. INTRODUÇÃO

Um dos fatores mais importantes para o sucesso do processo reprodutivo, tanto de espécies silvestres quanto das domesticadas, é a sua condição nutricional (Collins & Anderson, 1999; Everson *et al.*, 2000, Henderson *et al.*, 2000, Izquierdo *et al.*, 2001). O estado nutricional regula os eventos fisiológicos envolvidos na reprodução dos organismos vivos, possibilitando ao sistema reprodutivo responder às mudanças na condição nutricional do indivíduo, fator muito importante para a sobrevivência dos peixes sob condições ambientais variáveis (Williams, 1999). Um exemplo é a ausência ou redução de alimento durante determinadas épocas do ciclo de vida dos peixes, tais como inverno ou migração reprodutiva (Borghetti & Canzi, 1993; Mackenzie *et al.*, 1998), as quais eles podem suportar utilizando diferentes estratégias metabólicas e hormonais. Estes períodos estão correlacionados com alterações no nível de hormônios como a insulina (Mommsen & Plisetskaya, 1991)

Na época reprodutiva, a maioria dos peixes reofílicos tem uma marcada diminuição na ingestão de alimento, sem conseqüências negativas para seu desempenho reprodutivo. Porém, a literatura especializada ainda apresenta controvérsia sobre a relação entre restrição alimentar e reprodução. Trabalhos feitos em salmonídeos demonstraram que a restrição alimentar inibiu os processos de maturação das gônadas (Thorpe *et al.*, 1990, Berglund, 1995, Hopkins & Unwin, 1997), embora, Karlsen *et al.* (1995), trabalhando com *Gadus morhua*, tenham comprovado que a restrição alimentar não aumentou a proporção de peixes imaturos. Do mesmo modo, Jobling *et al.* (1993) observaram que a restrição alternada, durante 6 meses, também não afetou a porcentagem de maturação de machos de *Salvelinus alpinus*. Resultados similares foram encontrados por Rice & Burton (2000), em machos dessa mesma espécie.

Segundo vários pesquisadores, as fêmeas apresentam maior sensibilidade à restrição alimentar devido a maior demanda energética durante o processo reprodutivo. Duston & Saunders (1999) corroboraram este fato em *Salmo salar*, enquanto Silverstein & Shicma (1994), ao utilizar a restrição alimentar de 50% durante 6 meses, observaram redução na porcentagem de maturação fêmeas de *Oncorhynchus masou*, mas não na de machos. Towhshend & Wooton (1984) encontraram taxas de fecundidade inferiores para fêmeas restritas de *Cichlasoma nigrofasciatum*, enquanto que para os machos não

houve diferenças. Isso sugere que o investimento de nutrientes na reprodução é menor nos machos do que nas fêmeas (Imsland *et al.*, 1997; Bromley *et al.*, 2000). No entanto, Carvalho (2001) demonstrou que, em *Brycon cephalus*, uma restrição de 40% de ração, ao longo de um ano, não afetou o desenvolvimento gonadal dos indivíduos, nem o IGS, em ambos os sexos. O mesmo aconteceu com o IGS da *Tilapia zillii* e do *Plecoglossus altivelis* submetidos a uma redução na quantidade de alimento fornecido (Yao *et al.*, 1994; Coward & Bromage, 1999).

Por outro lado, o conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva existente até o momento tem dado especial ênfase à reprodução de fêmeas, razão pela qual esta pesquisa investigou o desempenho reprodutivo de machos. Assim, o presente trabalho avaliou a influência da restrição alimentar moderada e alternada, adotada durante 8 meses que antecederam a reprodução, sobre a maturação gonadal, as características seminais e o desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, uma espécie com grande valor comercial na piscicultura brasileira, devido a seu bom crescimento, adaptação ao cativeiro e qualidade da sua carne (Soares, 1989; Junqueira & Colares, 1994; Scorvo-Filho *et al.*, 1998)

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1 Animais e instalações

O trabalho foi desenvolvido no Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal-SP, durante o período de março a novembro de 2001.

Foram utilizados 32 machos adultos de *Brycon cephalus*, de um lote proveniente do Centro de Pesquisas em Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga-SP, distribuído em 8 viveiros de terra a uma densidade de estocagem de 1 peixe para cada 3 m². A média de peso foi de 1510,10 ± 27,08 g para o grupo 1 (4 viveiros) e 1586,36 ± 31,40 g para o grupo 2 (4 viveiros).

2. 2 Tratamentos

Uma vez formados os grupos controle (G1) e experimental (G2), e após um período de adaptação às novas condições de 15 dias, os peixes foram submetidos aos seguintes tratamentos: os machos do G1 receberam ração diariamente *ad libitum*; enquanto que os do G2 foram alimentados de forma alternada, com 3 dias de alimentação e 2 dias de restrição. Quando os peixes de G2 eram realimentados, recebiam a mesma quantidade oferecida aos animais de G1, para evitar ingestão compensatória. A restrição foi aplicada durante oito meses, até o momento da desova. Nessa ocasião, foram selecionados para serem induzidos à reprodução aqueles indivíduos que liberavam sêmen a uma leve pressão abdominal. Os restantes foram sacrificados para retirada e pesagem das gônadas e fígado e o cálculo dos IGS e IHS e para histologia gonadal.

2. 3 Indução à reprodução e coleta do material

Foram selecionados 14 indivíduos do G1 e 11 do G2, os quais foram transferidos para o Laboratório de Reprodução do CAUNESP e induzidos com extrato pituitário de carpa (EPC), na dose de 1,0 mg/kg. Após 150 horas grau, os machos foram

individualmente anestesiados com benzocaína ($0,1\text{g} \times \text{L}^{-1}$) para coleta do fluido seminal em tubos graduados estéreis. Uma porção foi coletada em tubos capilares para determinação do espermatócrito (Billard, 1995). O volume foi medido diretamente no tubo (Silveira *et al.*, 1985), e os capilares foram centrifugados a 8500 rpm durante 5 minutos, para leitura do espermatócrito. Posteriormente, foi feita a análise microscópica do material e avaliadas a motilidade e atividade (Salisbury & Vandermark, 1964), porcentagem de células vivas e mortas (Blom, 1950) e concentração espermática em câmara de Neubauer (Billard & Cosson, 1992). A quantificação da motilidade e atividade espermática foi feita na hora da coleta, enquanto que a porcentagem de células vivas e mortas se realizou posteriormente pela coloração de eosina-nigrosina (Blom, 1950). Para determinação da concentração espermática, o sêmen foi fixado com formol salino (diluição 1:1000). Além disso, foram medidos o pH, a temperatura e a osmolaridade do sêmen.

2.4 Histologia

Os indivíduos que não foram selecionados para reprodução por não apresentarem as características adequadas foram sacrificados, pesados e medidos. Posteriormente foram coletados e pesados o fígado e as gônadas para cálculo dos índices somáticos: IGS (índice gonado-somático) e IHS (índice hepato-somático), segundo a seguinte fórmula: $\{(\text{peso do órgão/peso corporal}) \times 100\}$. Três porções de cada uma das gônadas foram fixadas em Bouin, para análise histológica. Vinte e quatro horas após, o material fixado foi lavado com água corrente até eliminar todo o excesso de ácido pícrico, posteriormente foi lavado em álcool 70% e hidróxido de amônio (0,5 ml/100 ml), logo após foi desidratado com séries crescentes de álcool etílico, clarificado e diafanizado com xilol, impregnado em xilol e parafina para finalmente ser incluído em parafina. Foram feitos cortes de 6 μm , montados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina. Finalmente, foram observados e fotografados em microscópio Karl Zeiss MC80DX.

2.5 Teste de fertilização

Com o sêmen obtido, foi feito um teste de fertilização, para o qual foram utilizados óvulos de uma fêmea alimentada diariamente e induzida com EPC, segundo o protocolo de rotina. Uma vez obtidos, os óvulos foram divididos em 25 alíquotas ($\pm 7,5$ g cada), e fertilizados com 1 ml de sêmen de cada um dos machos utilizados no estudo. Logo após, os ovos foram incubados em caixas plásticas com 20 L de água e aeração constante, a uma temperatura de $24,5 \pm 1$ °C. A porcentagem de fertilização foi calculada 7 horas pós-fertilização, no estágio de tampão vitelino.

2.6 Taxa de eclosão e larvicultura

A porcentagem de eclosão foi calculada em todas as incubadoras e as larvas obtidas foram observadas até a reabsorção do saco vitelino, sendo coletadas e fixadas em formol (10%) 10 larvas de cada incubadora, a cada 12 horas, durante 3 dias, para medição de peso (balança analítica Sartorius® com precisão de 0,01 mg) e comprimento (microscópio estereoscópico Karl Zeiss com ocular micrométrico).

2. 7 Análise estatística

Para análise estatística dos dados macro e microscópicos do sêmen foi utilizado um delineamento inteiramente casualidade e para a larvicultura o delineamento foi em parcelas subdivididas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita pelo software SAS (6,12). Adicionalmente, foi feita uma regressão linear para as variáveis concentração espermática e espermatócrito, para estabelecer se existia correlações entre elas.

3. RESULTADOS

Os resultados das características do sêmen são apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que, somente para o volume espermático, foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, sendo maior a média do grupo de animais sem restrição alimentar ($12,58 \pm 4,52$ ml), do que os do grupo submetido à restrição ($8,06 \pm 4,32$ ml). Quanto às outras variáveis, as médias foram estatisticamente iguais, apresentando os seguintes valores: motilidade ($4,65 \pm 0,93$ em G1 e $4,63 \pm 0,50$ em G2); atividade espermática ($76,79 \pm 37,92$ seg em G1 e $75,18 \pm 29,66$ seg em G2); concentração celular ($4,60 \pm 1,18$ em G1 e $4,76 \pm 1,86 \times 10^6$ cél μL^{-1} em G2); espermatócrito ($9,43 \pm 2,33$ % em G1 e $10,36 \pm 3,91$ % em G2); número de células vivas ($95,22 \pm 4,00$ % em G1 e $96,95 \pm 1,22$ % em G2); osmolaridade ($260,86 \pm 27,49$ mOsmol Kg^{-1} em G1 e $260,32 \pm 24,11$ mOsmol Kg^{-1} em G2); temperatura ($28,85 \pm 0,40$ °C em G1 e $28,71 \pm 1,22$ °C em G2) e pH ($7,80 \pm 0,10$ em G1 e $7,87 \pm 0,10$ em G2). A regressão linear feita para as variáveis espermatócrito e concentração espermática apresentou uma correlação positiva imperfeita nos dois grupos ($R^2 = 0,9784$ para os machos alimentados diariamente e $R^2 = 0,9972$ para os machos restritos). O coeficiente de Pearson foi 0,9891 e 0,9986, respectivamente.

As médias de IGS foram de $0,287 \pm 0,106$ em G1 e $0,468 \pm 0,216$ em G2. As de IHS foram de $1,012 \pm 0,143$ e $1,187 \pm 0,258$, respectivamente. Para a análise de variância dessas variáveis, os valores foram transformados em arco seno da raiz do valor $\{\text{arc sen (IGS)}^{1/2} \text{ e } \text{arc sen (IHS)}^{1/2}\}$. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos (CV = 24,04 e 8,84 % para IGS e IHS, respectivamente).

A análise histológica mostrou que os machos alimentados diariamente estavam no estágio de maturação inicial, apresentando espermatogônias e grande quantidade de cistos de espermátocitos, sendo possível observar aparecimento do lúmen (Figura 1 a, b). Já nos peixes restritos, verificou-se que todos os indivíduos analisados se encontravam em maturação final, observando-se alguns cistos de espermatozóides (Figura 1 c) ou maduros, apresentando rompimento desses cistos no lúmen do túbulo seminífero (Figura 1 d).

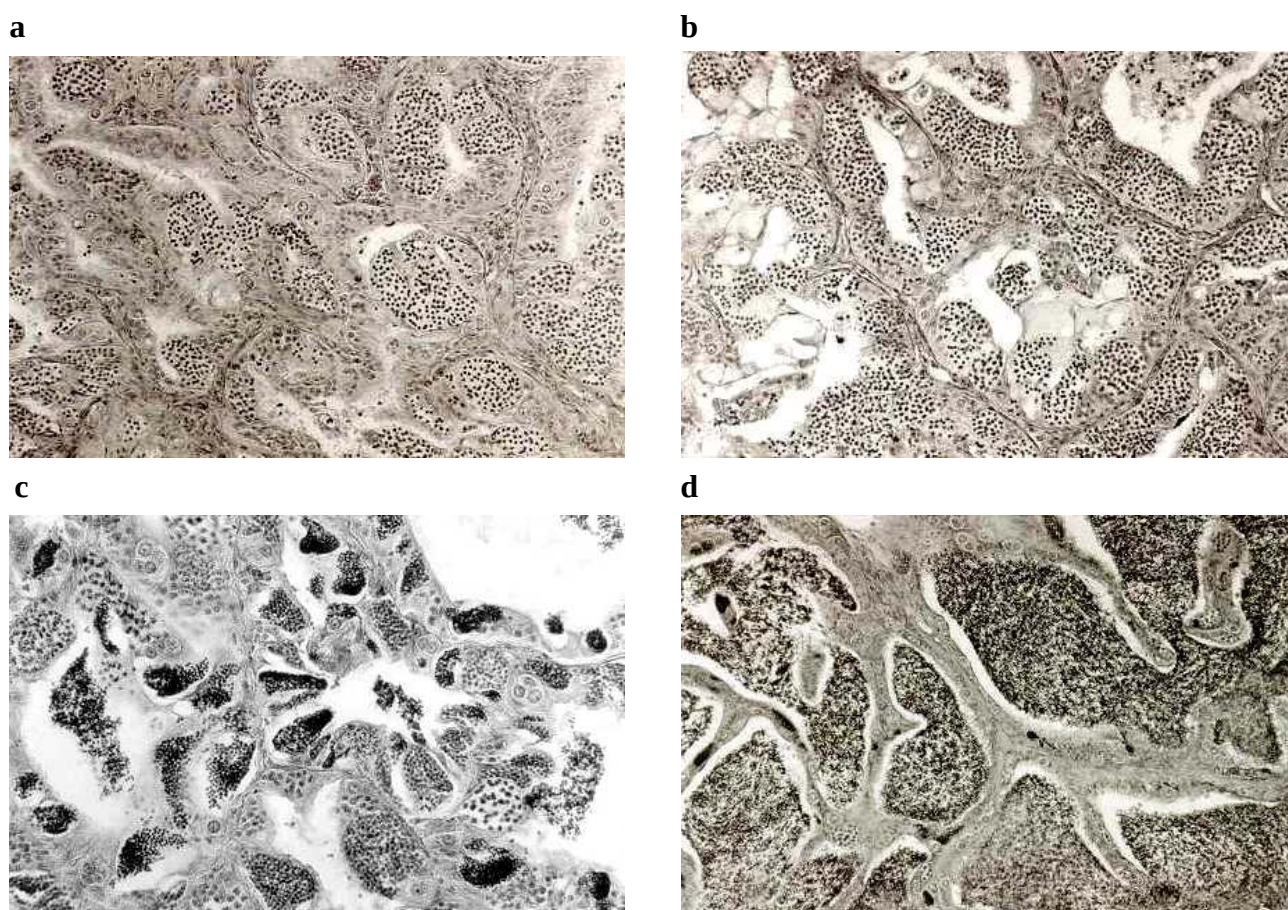


Figura 1. Cortes transversais dos testículos de matrinxã nos dois grupos: alimentados diariamente (a, b) e submetidos a restrição alimentar (c, d). Coloração HE. Aumento 20X.

As taxas de fertilização ($76,31 \pm 16,06$ % em G1 e $68,30 \pm 20,21$ % em G2) e de eclosão ($77,85 \pm 14,87$ em G1 e $74,01 \pm 16,52$ % em G2) não diferiram entre os grupos estudados (Figura 2).

O crescimento das larvas não foi afetado pelo tratamento imposto aos machos e tanto o peso quanto o comprimento não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 2). Ao final de 72h, as larvas de G1 pesavam $1,18 \pm 0,21$ mg e mediam $0,650 \pm 0,011$ cm e as de G2 $1,26 \pm 0,13$ mg e $0,652 \pm 0,008$ cm. Entre 0 e 12 horas de cultivo, não houve diferença no peso das larvas, mas a seguir o aumento foi significativo, com nova estabilização do peso entre 48 e 60 horas, mostrando períodos definidos sem ganho de peso. Esta situação foi similar nos dois grupos (Figura 3). A situação foi um pouco diferente para o comprimento, onde foram observadas diferenças significativas ao longo do cultivo, exceto nas duas últimas amostragens cujas médias foram estatisticamente iguais (Figura 4).

Tabela 1. Médias* $\pm$ desvio padrão dos parâmetros do sêmen de matrinxãs alimentados diariamente (G1) e submetidos à restrição alimentar G2).

Tratamento	Volume (ml)	Motilidade	Atividade (Seg)	Concentração (Cél * 10 ⁶ μ L)	Espermatócrito (%)	Osmolaridade (mOsmo kg ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	Células Vivas (%)
G1	12,54 $\pm$ 4,52 ^a	4,65 $\pm$ 0,93 ^a	76,79 $\pm$ 37,92 ^a	4,60 $\pm$ 1,18 ^a	9,43 $\pm$ 2,33 ^a	260,86 $\pm$ 27,49 ^a	7,80 $\pm$ 0,10 ^a	28,85 $\pm$ 0,40 ^a	95,22 $\pm$ 4,00 ^a
G2	8,06 $\pm$ 4,32 ^b	4,63 $\pm$ 0,50 ^a	75,18 $\pm$ 29,66 ^a	4,76 $\pm$ 1,86 ^a	10,36 $\pm$ 3,91 ^a	260,32 $\pm$ 24,11 ^a	7,87 $\pm$ 0,10 ^a	28,71 $\pm$ 0,67 ^a	96,95 $\pm$ 1,22 ^a
CV (%)	41,95	16,67	45,45	32,32	31,68	10,00	1,39	1,85	3,25

* n = 14 em G1; n = 11 em G2

CV = coeficiente de variação.

Médias com letras diferentes nas colunas apresentaram diferenças significativas (teste de Tukey, 5%)

Tabela 2. Médias* $\pm$ desvio padrão do peso (mg) e comprimento (cm) das larvas de matrinxãs alimentados diariamente (G1) e submetidos a restrição alimentar (G2) nas diferentes amostragens.

Tratamento		Tempo de cultivo (horas)						
		0	12	24	36	48	60	72
Peso	G1	0,569 $\pm$ 0,052 ^a	0,660 $\pm$ 0,052 ^a	0,788 $\pm$ 0,075 ^b	0,891 $\pm$ 0,074 ^c	1,057 $\pm$ 0,075 ^d	1,045 $\pm$ 0,203 ^d	1,183 $\pm$ 0,214 ^e
(mg)	G2	0,588 $\pm$ 0,022 ^a	0,692 $\pm$ 0,058 ^a	0,763 $\pm$ 0,151 ^b	0,965 $\pm$ 0,088 ^c	1,043 $\pm$ 0,118 ^d	1,071 $\pm$ 0,111 ^d	1,265 $\pm$ 0,137 ^e
CV (%)	12,82							
Comprimento	G1	0,299 $\pm$ 0,009 ^a	0,391 $\pm$ 0,019 ^b	0,467 $\pm$ 0,027 ^c	0,563 $\pm$ 0,022 ^d	0,596 $\pm$ 0,018 ^e	0,637 $\pm$ 0,015 ^f	0,650 $\pm$ 0,011 ^f
(cm)	G2	0,302 $\pm$ 0,009 ^a	0,390 $\pm$ 0,022 ^b	0,459 $\pm$ 0,027 ^c	0,561 $\pm$ 0,033 ^d	0,603 $\pm$ 0,014 ^e	0,637 $\pm$ 0,012 ^f	0,652 $\pm$ 0,009 ^f
CV (%)	3,28							

* Médias obtidas de 10 larvas de cada macho, em cada tratamento (n = 140 em G1; n = 110 em G2)

CV = coeficiente de variação

Para cada parâmetro, médias seguidas de letras iguais não apresentaram diferenças significativas (teste de Tukey, 5%)

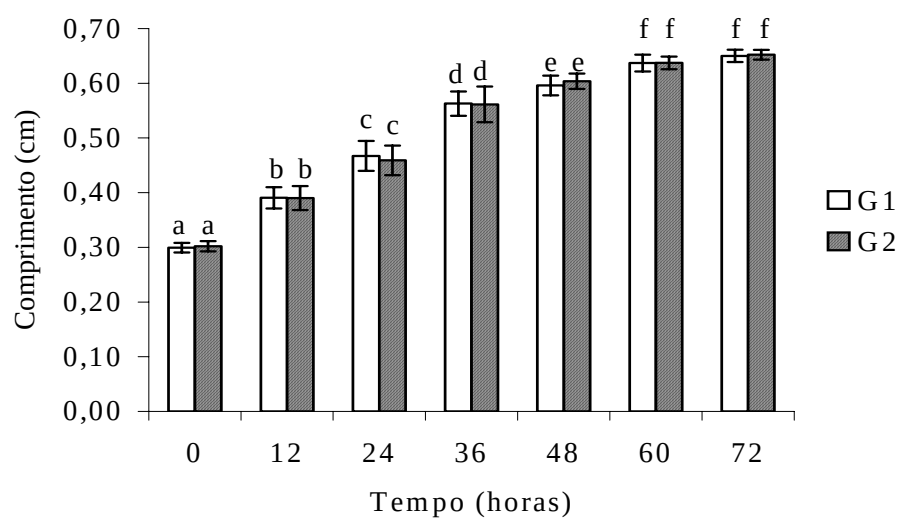


Figura 2. Valores médios das taxas de fertilização e de eclosão (%) $\pm$ desvio padrão nos dois tratamentos: G1 ($\square$) e G2 ($\blacksquare$). Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). $n = 14$ para G1 e $n = 11$ para G2.

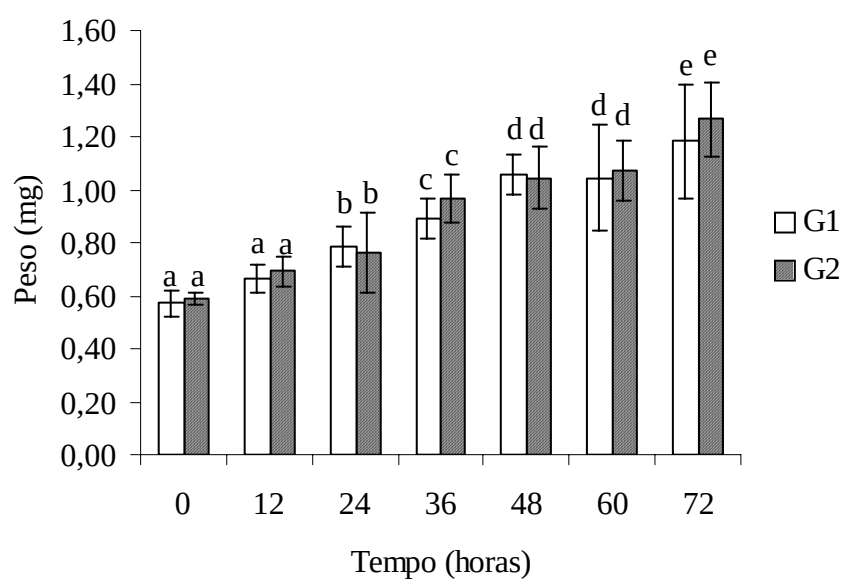


Figura 3. Médias do peso $\pm$ desvio padrão das larvas de matrinxã. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). (G1, $n=140$; G2, $n=110$).

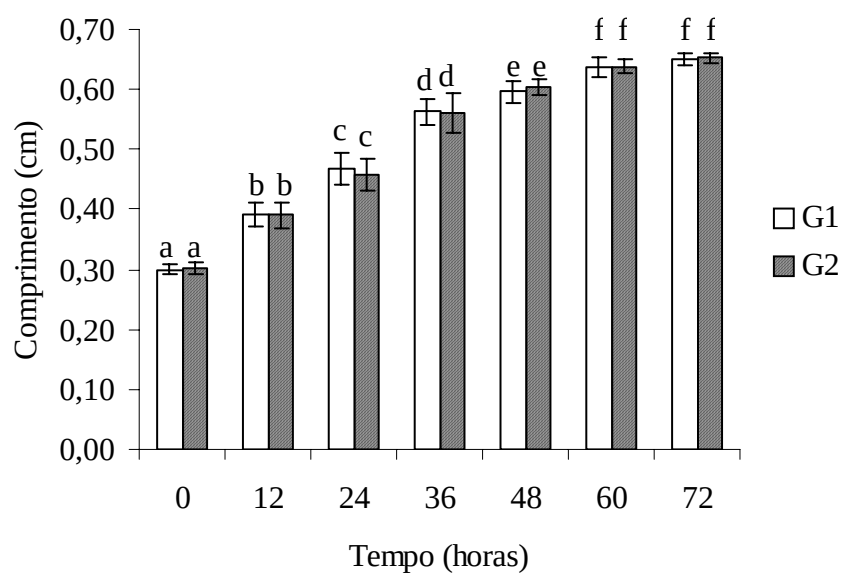


Figura 4. Médias do comprimento $\pm$ desvio padrão das larvas de matrinxã. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). (G1, $n=140$;

4. DISCUSSÃO

A restrição alimentar de 40% (3 dias de alimento, 2 dias sem alimento) oferecida em dias alternados e imposta a machos de matrinxã, nos 8 meses que precederam a desova, não afetou o processo de maturação testicular, as características seminais ou a capacidade fertilizadora do sêmen. Num esquema alimentar parecido, Silverstein & Shimma (1994), utilizaram restrição alimentar de 50%, durante 6 meses, em machos de *Oncorhynchus masou* e encontraram resultado semelhantes. Igualmente, Jobling *et al.* (1993) e Rice & Burton (2000) comprovaram em machos de *Salvelinus alpinus* que a restrição alimentar não afetou a maturação. No entanto, em outros estudos com salmonídeos, a privação de alimento diminuiu o número de peixes maduros (Thorpe *et al.*, 1990; Reimers *et al.*, 1993; Hopkins & Unwin, 1997).

A análise histológica e os IGS e IHS demonstraram que, nos machos restritos, não houve alterações no desenvolvimento testicular nem no peso dos testículos e do fígado, concordando com os resultados obtidos por Townshend & Wooton (1984) para machos de *Cichlasoma nigrofasciatum* e por Karlsen *et al.* (1995) em machos restritos de *Gadus morhua*. Estes resultados discordam de Williams (1999), segundo o qual a restrição alimentar pode causar contínuas alterações na função dos testículos, com efeito negativo na massa testicular e na saída do sêmen.

A ausência de efeito da restrição em machos ocorre, segundo alguns autores, pois os machos demandariam menos custo energético na maturação do que as fêmeas, como descrito por Duston & Saunders (1999) em *Salmo salar*, por Silverstein & Shimma (1994) em *Oncorhynchus masou* e por Bromley *et al.* (2000) em *Scophthalmus maximus*. Porém, existem resultados demonstrando o contrário. Em *Brycon cephalus*, a restrição de 40% na ração, ao longo de um ano, não afetou o desenvolvimento gonadal dos indivíduos, fato observado pelas características histológicas, níveis hormonais e pelo IGS, em ambos os sexos (Carvalho, 2001). Igualmente, nenhuma alteração foi verificada no IGS de *Tilapia zillii* e de *Plecoglossus altivelis* submetidos a uma redução na quantidade de alimento fornecido (Coward & Bromage, 1999; Yao *et al.*, 1994). Do mesmo modo, na truta arco íris, a restrição alimentar não afetou o índice gonadosomático (IGS) nem a qualidade dos ovos (Ridelman *et al.*, 1984).

A semelhança no desenvolvimento gonadal e no IHS, bem como nas características seminais e a capacidade de fertilização, observados nos grupos

estudados, mostra a capacidade dos animais de se ajustarem à condição alimentar imposta, de modo a não prejudicar a importante função reprodutiva. É bastante provável que os peixes sejam dotados de mecanismos hormonais e bioquímicos para essa finalidade, visto ser este fato uma ocorrência natural no ciclo de vida destes animais, incluindo-se o matrinxã (Pizango-Paima, 1997). Já foi sugerido que a anorexia verificada no período reprodutivo dos peixes está ligada a hormônios, dentre os quais a insulina (Mommsen & Plisetskaya, 1991), que atua para promover melhor utilização dos nutrientes disponíveis, de modo que a exigência energética do organismo seja atendida. Esta habilidade dos peixes já foi verificada em *Sparus auratus* que mostrou melhor conversão alimentar e maior ganho de peso por proteína ingerida quando a quantidade de ração oferecida foi reduzida (Pérez & Sánchez *et al.*, 1995). O mesmo ocorreu com *Oreochromis niloticus*, que também apresentou o mesmo conteúdo de proteína e lipídeo na carcaça, embora a ração diminuísse à metade (Xie *et al.*, 1997). O estudo de Carvalho (2001), com matrinxã, mostra uma homeostase metabólica durante os ciclos de restrição alimentar e realimentação, aplicados durante um ano, visto que todos os metabólitos estudados (carboidratos, lipídeos e proteína), nos diferentes tecidos corporais, tiveram níveis mantidos durante ausência de alimento.

Além deste efeito metabólico indireto na reprodução, provavelmente mediado pela insulina ciclicamente liberada durante as fases de realimentação (Mommsen & Plisetskaya, 1991), pode estar ocorrendo efeito direto deste hormônio nas gônadas. A presença de receptores para insulina já foi detectada em gônadas de várias espécies (Gutiérrez *et al.*, 1993; Maestro *et al.*, 1997; Maestro *et al.*, 1999), bem como efeito gonadotrófico em *Carassius auratus* (Srivastava & Van Der Kraak, 1994) e de juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (Urbinati *et al.*, 1997).

De todas as características seminais examinadas, apenas o volume seminal foi reduzido na restrição alimentar, mas dificilmente isto pode indicar efeito negativo, visto que todas as outras características estudadas foram preservadas. Este resultado difere do encontrado em matrinxãs submetidos a 3 meses de restrição alimentar alternada (cap. II desta dissertação), nos quais o volume espermático aumentou. A diferença no tempo de exposição dos peixes à privações de alimento pode ser a explicação. Neste caso, um período de restrição mais curto poderia estar ativando processos compensatórios de forma mais intensa, os quais se atenuariam com a extensão da privação.

Quanto às características seminais, os dados encontrados relativos a volume e concentração de células diferem dos encontrados por Silveira (2000), para a mesma espécie, tanto no grupo alimentado diariamente quanto no restrito. No presente estudo, o volume descrito é maior, enquanto a concentração é inferior à reportada. Já para as outras variáveis, não há dados disponíveis para a espécie em estudo que permitem comparar os resultados. Porém, Lahnsteiner *et al.* (1997) e Tan-Fermin *et al.* (1999) encontraram valores de pH e osmolaridade para *Oreochromis mossambicus* e *Clarias macrocephalus*, similares aos obtidos no presente estudo, sugerindo que estes valores sejam padrões para o plasma seminal dos peixes de água doce. Entretanto, as médias obtidas para atividade espermática, que refletem a duração do movimento celular, foram superiores, nos 2 grupos estudados, à reportada por Linhart *et al.* (1999) de, no máximo, 60 segundos, em peixes de água doce.

Os coeficientes de Pearson encontrados (grupo alimentado, $R = 0,98$ e grupo restrito, $R = 0,99$) para a correlação da concentração espermática com o espermatócrito demonstraram que as duas metodologias são igualmente eficientes na avaliação da quantidade de espermatozóides no líquido seminal, tal como tinha sido demonstrado por Billard *et al.* (1980) em *Exos lucios* ($R = 0,98$), por Silveira *et al.* (1985a) em truta arco íris ($R = 0,85$), por Fogli da Silveira *et al.* (1990) em *Piaractus mesopotamicus* ($R = 0,93$) e por Kavamoto *et al.* (1986) em *Rhamdia hilarii* ($R = 0,75$). No entanto, Rakitin *et al.* (1999) não encontraram nenhuma correlação positiva entre o espermatócrito e a contagem em Câmara de Neubauer em sêmen de *Gadus morhua*. Os dados encontrados na correlação das variáveis sugerem que seria possível a utilização do espermatócrito como uma metodologia rotineira, para simplificar a avaliação da concentração espermática no laboratório ou em condições de campo (Fogli da Silveira *et al.*, 1990).

As taxas de fertilização e de eclosão não foram alteradas pela restrição alimentar e nos dois grupos foram superiores das reportadas por Silveira (2000) e Andrade (2002), e inferiores às reportadas por Romagosa (1998), na mesma espécie. Do mesmo modo, o crescimento inicial das larvas, em peso e comprimento, não foram influenciados pela restrição de alimento, dados que não concordam com os resultados obtidos em *Dicentrarchus labrax*, em que a restrição à metade, na quantidade de alimento oferecido, durante 6 meses, promoveu menor crescimento das larvas em relação às provenientes de peixes alimentados à vontade (Cerdá *et al.*, 1994). Os dados obtidos na

progênie reforçam a ausência de efeitos negativos da restrição alimentar moderada e alternada utilizada, não obstante o tempo longo de exposição dos reprodutores, sobre o desempenho reprodutivo do matrinxã, e permitem concluir que esta estratégia é viável no cultivo da espécie.

BIBLIOGRAFIA

- Andrade, L. F. Desenvolvimento inicial de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* sob efeito do cortisol. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP., 2002.
- Berglund, I. Effects of spring temperature and feeding regime on sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) male parr. Fifth International Symposium Reproductive Physiology of Fish. p 170. Austin. U.S.A., 1995.
- Billard, R. & Marcel, Stimulation of spermiation and induction of ovulation in pike (*Esox lucius*). Aquaculture. v. 21, (2), p. 181-195, 1980.
- Billard, R. & Cosson, M. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J. Exper. Zool. v. 261, p. 122-131, 1992.
- Billard, R. Sperm physiology and quality. In: Bromage, N.R.; Roberts, R.J. Broodstock management and egg larval quality. Oxford, Blackwell Science, p.25-51, 1995.
- Blom, E. A one minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin. Fertility and Sterility. v. 2, p. 176-177, 1950.
- Borghetti, R. & Canzi, C. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. Aquaculture. v. 114 (1-2), p. 93-101, 1993.
- Bromley, J.; Ravier, C. & Withames, P. The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. J. Fish Biol. v. 56, p. 264-278, 2000.
- Carvalho, E.G. Redução na oferta de ração: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, TELEOSTEI: Characidae) em cativeiro. Tese, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP., 2001.
- Cerdá, J.; Carillo, M. & Ramos, J. Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. Aquat. Living Resour. v.7, p. 255-256, 1994.
- Collins, A L. & Anderson, T.A The role of food availability in regulating reproductive development in female golden perch. J. Fish Biol. v. 55, p. 94-104, 1999.
- Coward, K. & Bromage, N.R. Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first-feeding to sexual maturity Aquat. Living Resource. v. 12(1), p.11-22, 1999.
- Duston, J. & Saunders, R.L. Effect of winter food deprivation on growth and sexual maturity of Atlantic salmon (*Salmo salar*), in seawater. Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 56, p. 201-207, 1999.

- Everson, K.; Kock, H. & Ellison, J. Inter-annual variation in the gonad cycle of the mackerel icefish. *J. Fish Biol.* v. 57 (supplement A), p 103-111, 2000.
- Fogli da Silveira, W.; Kavamoto, E.; Cestarolli, M.; Godinho, H.; Ramos, S. & Silveira, A. Avaliação espermática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), proveniente de reprodução induzida. *B. Inst. Pesca.* v. 17(único), p. 1-13, 1990.
- Gutiérrez, J.; Párrizaz, M.; Carneiro, N.; Maestro, M. & Planas, J. Insulin and IGF-I receptors and tyrosine kinase activity in carp ovaries: changes with reproductive cycle. *Fish Physiol. Biochem.* v. 11, p. 247-254, 1993.
- Henderson, B; Trivedi, T & Collins, N. Annual cycle energy allocation to growth and reproduction of yellow perch. *J. Fish Biol.* v. 57, p. 122-133, 2000.
- Hopkins, C. & Unwin, M. The effect of restricted springtime feeding on growth and maturation of freshwater-reared Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquac. Res.* v. 28, p. 545-549, 1997.
- Imsland, A.; Flokvord, A.; Grung, G.; Stefansson, S. & Taranger, G. Sexual dimorphism in growth and maturation of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquac. Res.* v. 28, p. 101-114, 1997.
- Izquierdo, M.; Fernández-Palacios, H. & Tacon, A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture.* v. 197, p. 25- 42, 2001.
- Jobling, M.; Jørgensen, E. & Siikavuopio, S. The influence of previous feeding regime on the compensatory growth response of maturing and immature Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *J. Fish Biol.* v. 43, p. 409- 419, 1993.
- Junqueira, J. & Colares, J. Anais do I Seminário sobre criação de espécies do gênero Brycon, Pirassununga: CEPTA. 1994.
- Karlsen, Ø.; Holm, J. & Kjesbu, O. Effects of periodic starvation on reproductive investment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture.* v. 133, p. 159-170, 1995.
- Kavamoto, E. & Fogli da Silveira, W. Características físicas químicas e microscópicas do sêmen do bagre *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1849) em condições de campo. *B. Inst. Pesca.* v. 13 (1), p. 95-100, 1986
- Lahnsteiner, F.; Berger, B.; Weismann, T. & Patzner, A. Sperm structure and motility of the freshwater teleost *Cottus gobio* *J. Fish Biol.* v. 50, p. 564-574, 1997.
- Linhart, O.; Walford, J.; Sivaloganathan, B. & Lam, T. Effects of osmolarity and ions on the motility of stripped and testicular sperm of freshwater and seawater acclimated tilapia, *Oreochromis mossambicus* *J. Fish Biol.* v. 55, p. 1344-1358. 1999.

- Mackenzie, D.; Vanputte, C. & Leiner, K. Nutrient regulation of the endocrine function in fish. *Aquaculture*. v. 161, p. 3-25, 1998.
- Maestro, M.; Mendez, E.; Planas, J. & Gutiérrez, J. Dynamics of insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-I) ovarian receptors during maturation in the brown trout (*Salmo trutta*). *Fish Physiol. Biochem.* v. 20, p. 341-349, 1999.
- Maestro, M.; Planas, J.; Moriyama, S.; Gutiérrez, J. & Swanson, P. Ovarian receptor for insulin and insulin-like growth factors and effects of steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 106, p. 189-201, 1997.
- Mommsen, T. & Plisetskaya, E. Insulin in fishes and agnathans: History, structure and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.* v. 4, p. 225-259, 1991.
- Pérez-Sánchez, J.; Martí-Palanca, H. & Kaushik, S. J. Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoreactivity in a marine teleost, the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *J. Nutr.* v. 125, p. 546-552, 1995.
- Pizango-Paima, E. G. Estudo da alimentação e composição corporal do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Characiformes, Characidae) na Amazônia central. Dissertação, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, Universidade do Amazonas, 1997.
- Rakitin, A.; Ferguson, M. & Trippel, E. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*. v. 170, p. 349-358, 1999.
- Reimers, E.; Kiørrefjord, A. & Stavóstrand, S. Compensatory growth and reduced maturation in second sea winter farmed Atlantic salmon following starvation in February and March. *J. Fish Biol.* v. 43, p. 805-810, 1993.
- Rice, C. & Burton, M. Histological evidence supporting the two critical period model of sexual maturity in males salmonids. 6 Int. Symp. On the Reproductive Physiology of Fish, Bergen (Norway), 4-9 Jul., p 253, 2000.
- Ridelman, J.; Hardy, R. & Brannon, E. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*. v. 37, p. 133-140, 1984.
- Romagosa, E. Desenvolvimento gonadal (Morfologia, ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei, Characidae) em cativeiro. Vale do Ribeira, São Paulo. Tese, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. 1998.
- Salisbury, G. & Vandermark, N. Fisiología de la reproducción y de inseminación artificial de los bovidos. Zaragoza, Acribia, p. 707, 1964.

- Scorvo-Filho, J.; Martins, N. & Ayrosa, L. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*. v. 28, p. 41-60, 1998.
- Silveira, A. Caracterização espermática, preservação criogênica do semen e fertilidade do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1860). Dissertação, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 2000.
- Silveira, W.; Kavamoto, E.; Rigolino, M. & Carvalho Filho, A. O espermátocrito para avaliar a concentração de espermatozóides da truta arco-iris *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst Pesca*. v. 12(3), p. 105-108, 1985a.
- Silverstein, J. & Shimma, H. Effect of restricted feeding on early maturation in female and male amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae*. *J. Fish Biol.* v. 45, p. 1133-1135, 1994.
- Soares, M.C.F. Estudos preliminares do cultivo do matrinxã (*Brycon cephalus* Günther, 1869) (TELEOSTEI: CHARACIDAE), aclimação crescimento e reprodução. Dissertação, Instituto de Biologia / UFBA, Salvador – Ba. 1989.
- Srivastava, R. & Van Der Kraak, G. Insulin as an amplifier gonadotropin action on steroid production: Mechanism and sites of action in goldfish prematuration full-grown ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 95, p. 60-70, 1994.
- Tan-Fermin, J.; Miura, T.; Adachi S. & Yamauchi, K. Seminal composition, sperm motility and milt dilution in the Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Günther). *Aquaculture*. v. 171, p. 323-328, 1999.
- Thorpe, J.; Talbot, C.; Miles, M. & Keay, D. Control of maturation in culture Atlantic salmon, *Salmo salar*, in pumped seawater tanks, by restricting food intake. *Aquaculture*. v. 86, p. 315-326, 1990.
- Townshend, T. & Wootton, R. Effects of food supply on reproduction of the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *J. Fish Biol.* v. 24, p. 91-104, 1984.
- Urbinati, E.; Garutti, M. & Santos, H. A case report on hyperandrogenism in juvenile fish under insulin treatment. *Braz. J. Morph. Sci.* v. 14 (1), p. 37-38, 1997.
- Williams, G. Nutritional factors and reproduction. In: *The Reproduction*. Academic Press New York U.S.A. p. 412-502, 1999.
- Xie, S.; Cui, Y.; Yang, Y. & Liu, J. Energy budget of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to ration size. *Aquaculture*. v. 154, p. 57-68, 1997.
- Yao, S.; Umino, T. & Nakagawa, H. Effect of feeding frequency on lipid accumulation in ayu. *Fish. Sci.* v. 60 (6), p. 667-671, 1994.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

Baseados nos resultados apresentados nos capítulos II e III, pode-se concluir que a restrição alimentar moderada e alternada, da maneira como foi aplicada, não tem influência nas características seminais nem no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã, *Brycon cephalus*. Esta restrição pode ser aplicada na última fase de maturação gonadal (3 meses antes da desova) ou durante um período maior no ciclo de maturação (8 meses antes da desova), sem aparente diferença na resposta dos indivíduos. Isto significa que uma redução de 40% da ração, distribuída de forma parcelada, em machos de matrinxã, não afeta o desenvolvimento gonadal, as características seminais nem o desempenho reprodutivo dos animais.

Adicionalmente, os resultados mostraram que o esquema de restrição alimentar utilizado, não resultou em efeito mais tardio, não prejudicando o crescimento inicial da prole, o que sugere que esta forma de manejo alimentar, pode ser utilizado no cultivo do matrinxã, promovendo menor custo de produção sem aparentes prejuízos biológicos, especialmente no potencial reprodutivo dos machos da espécie.

Os dados obtidos corroboram os encontrados em outras espécies e complementam os já existentes sobre o matrinxã, mostrando a importância desta linha de pesquisa. Porém, a existência na literatura de dados contrários evidencia a necessidade da continuidade das investigações visando esclarecer as dúvidas ainda existentes. Um exemplo é estabelecer a intensidade e duração da restrição de alimento que poderia ser utilizado nos machos da espécie sem diminuir o seu potencial reprodutivo, ao longo de mais de um ciclo reprodutivo.