

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUISTA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

**JÉSSICA JULIAN FERNANDES LIMA**  
**Zootecnista**

**Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de lambaris  
(*Astyanax lacustris*) cultivados em sistema de bioflocos e em  
sistema de recirculação com água clara**

ILHA SOLTEIRA  
2022

**JÉSSICA JULIAN FERNANDES LIMA**

**Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de lambaris  
(*Astyanax lacustris*) cultivados em sistema de bioflocos e em  
sistema de recirculação com água clara**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – Unesp, Campus Ilha Solteira, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Alexandre Ninhaus  
Silveira

**Coorientadora:** Profa Dra. Hellen Buzollo  
Pazzini

ILHA SOLTEIRA

2022

FICHA CATALOGRÁFICA  
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

L732d Lima, Jéssica Julian Fernandes.  
Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de lambaris (*Astyanax lacustris*) cultivados em sistema de bioflocos e em sistema de recirculação com água clara / Jéssica Julian Fernandes Lima. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2022  
54 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2022

Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira  
Coorientador: Hellen Buzollo Pazzini  
Inclui bibliografia

1. Aquicultura sustentável. 2. Características seminais. 3. Cinética espermática. 4. Reprodução de peixes.

  
Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção  
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação  
CRB8 - 9999

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de lambaris (*Astyanax lacustris*)  
cultivados em sistema de bioflocos e em sistema de recirculação com água  
clara

**AUTORA:** JÉSSICA JULIAN FERNANDES LIMA

**ORIENTADOR:** ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA

**COORIENTADORA:** HELLEN BUZOLLO

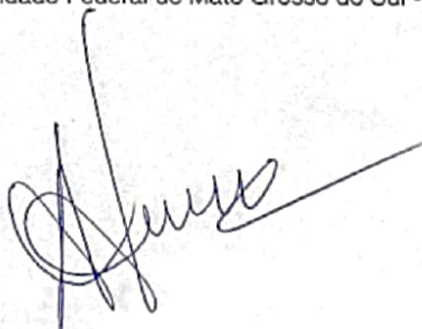
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em **CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA ANIMAL**, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA (Participação Presencial)  
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Profa. Dra. ROSEMEIRE DA SILVA FILARDI (Participação Presencial)  
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia - UNESP - Câmpus de Ilha Solteira

Prof. Dr. JAYME APARECIDO POVH (Participação Virtual)  
Instituto de Ciências Exatas e Naturais / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Ilha Solteira, 02 de junho de 2022



## **DEDICO**

À sociedade brasileira que, apesar de todas as dificuldades, consegue ter esperança de um futuro melhor e continua lutando a cada dia.

À Ciência Brasileira que tem se desenvolvido muito, ainda que não tenha o investimento que merece.

Aos cientistas brasileiros que se esforçam todos os dias para melhorar o cenário científico do país e não desistem perante as dificuldades.

E de forma exclusiva as mulheres do país. Mulheres que são estudantes ou trabalhadoras, têm filhos ou não, mas principalmente as mulheres que resistem e lutam dia após dia por seu lugar na sociedade, sem renunciar seus direitos e que levantam, se impõem e inspiram outras mulheres, afinal, quando uma mulher avança, todas avançam também.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus familiares que me apoiaram durante toda minha trajetória e foram minhas inspirações e pilares para que eu continuasse meu caminho, conseguindo direcionar cada passo meu, rumo ao meu objetivo e desejo de vida.

À minha mãe Alexandra e minha avó Mara que foram as principais responsáveis pela conclusão deste curso. Elas sempre serão as mulheres mais incríveis que conheci, as quais me inspiro todos os dias e vejo que desistir não é uma opção.

Minha filha Maitê Jahzara que é meu maior presente, meu maior bem e chegou em minha vida para me mostrar o que é amor, responsabilidade e principalmente o significado de persistência e resiliência.

Às minhas amigas Isis Parise, Geise Santos e Giovana Gonçalves que, ao longo de minha jornada me incentivam, apontam meus erros para minha melhora, acreditam em mim e que estão sempre próximas apesar da distância física.

A Malbelys Padilha que foi minha parceira desde que cheguei ao Laboratório e sem dúvidas foi uma de minhas fontes de inspiração por toda sua força, disposição e determinação.

Aos amigos Maiara Olivio, Laicia Leite, Luciane Gomes, Stella Indira, Gabrielli Torno, Valdomiro Colavite, Malu Magri e Jackeline Pricilla, que ganhei durante meu período de mestrado, que foram bastante receptivos em minha chegada na cidade e durante esse período alegraram meus dias.

Aos professores Alexandre Ninhaus Silveira e Rosicleire Veríssimo Silveira que me aceitaram em seu laboratório, me ensinaram quais caminhos percorrer e confiaram em mim para o desenvolvimento de um projeto incrível.

À professora Hellen Buzollo que me coorientou e auxiliou para o melhor desenvolvimento de minha dissertação.

Aos professores Jayme Aparecido Povh e Marcelo Mattos Pedreira por todo auxílio em minha qualificação para melhoria do meu trabalho.

À CAPES pelo auxílio financeiro durante o período de mestrado, à UNESP de Ilha Solteira por disponibilizar seus laboratórios para desenvolvimento de minha pesquisa.

E por fim, agradeço a mim mesma, pela luta em chegar aqui, pela insistência, por ter aprendido minhas lições de vida e por ter me tornado essa mulher com muita garra, força e persistência que sempre fez questão de mostrar que uma mulher que é mãe, apesar das dificuldades, pode atingir seus objetivos.

“A mulher nasceu com todos os requisitos para ser vencedora. Só precisa tomar conhecimento do valor que representa a coragem de querer.”

Roberta Miranda

## SUMÁRIO

|         |                                                                                                                                                                       |    |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1       | INTRODUÇÃO GERAL                                                                                                                                                      | 7  |
| 2       | CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA                                                                                                                                    | 8  |
| 2.1     | Tecnologia de bioflocos (BFT)                                                                                                                                         | 8  |
| 2.2     | Tecnologia de recirculação (RAS)                                                                                                                                      | 10 |
| 2.3     | <i>Astyanax lacustris</i>                                                                                                                                             | 10 |
| 2.4     | Avaliação de parâmetros ligados a produção e reprodução                                                                                                               | 12 |
| 2.5     | Objetivos                                                                                                                                                             | 14 |
| 2.5.1   | <i>Geral</i>                                                                                                                                                          | 14 |
| 2.5.2   | <i>Específicos</i>                                                                                                                                                    | 15 |
|         | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                           |    |
| 3       | CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE LAMBARIS (ASTYANAX LACUSTRIS) CULTIVADOS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS E EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO COM ÁGUA CLARA | 22 |
| 3.1     | Introdução                                                                                                                                                            | 23 |
| 3.2     | Material e Métodos                                                                                                                                                    | 24 |
| 3.2.1   | <i>Local e animais</i>                                                                                                                                                | 24 |
| 3.2.2   | <i>Delineamento experimental</i>                                                                                                                                      | 24 |
| 3.2.3   | <i>Pré-cultivo de bioflocos</i>                                                                                                                                       | 25 |
| 3.2.4   | <i>Alimentação e análise de água</i>                                                                                                                                  | 26 |
| 3.2.5   | <i>Coletas e variáveis analisadas</i>                                                                                                                                 | 27 |
| 3.2.5.1 | <i>Desempenho zootécnico</i>                                                                                                                                          | 28 |
| 3.2.5.2 | <i>Análise bromatológica dos bioflocos e análise bromatológica corporal dos peixes</i>                                                                                | 28 |
| 3.2.5.3 | <i>Determinação dos Índices Gonadossomático, Índice Hepatossomático e Fatores de Condição</i>                                                                         | 29 |
| 3.2.5.4 | <i>Análise histológica de gônadas</i>                                                                                                                                 | 29 |
| 3.2.5.5 | <i>Análise dos caracteres reprodutivos</i>                                                                                                                            | 30 |
| 3.2.5.6 | <i>Aspectos cinéticos da motilidade espermática</i>                                                                                                                   | 30 |
| 3.2.5.7 | <i>Concentração espermática (espermatozoides/mm<sup>3</sup>)</i>                                                                                                      | 31 |
| 3.2.6   | <i>Análises estatísticas</i>                                                                                                                                          | 32 |
| 3.3     | Resultados                                                                                                                                                            | 32 |
| 3.3.1   | <i>Qualidade de água</i>                                                                                                                                              | 32 |
| 3.3.2   | <i>Desempenho Zootécnico</i>                                                                                                                                          | 35 |
| 3.3.3   | <i>Bromatologia dos Peixes</i>                                                                                                                                        | 35 |
| 3.3.4   | <i>Índice Gonadossomático e Fator de Condição Gonadal</i>                                                                                                             | 36 |
| 3.3.5   | <i>Análise histológica das gônadas</i>                                                                                                                                | 37 |
| 3.3.6   | <i>Qualidade Seminal</i>                                                                                                                                              | 37 |
| 3.4     | Discussão                                                                                                                                                             | 39 |
| 3.5     | Conclusão                                                                                                                                                             | 44 |
| 3.6     | Agradecimentos                                                                                                                                                        | 45 |
|         | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                           | 46 |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ictiologia Neotropical, Departamento de Biologia e Zootecnia da UNESP, Campus de Ilha Solteira, durante 365 dias. Foram utilizados um total de 1600 indivíduos juvenis de lambari-do-rabo-amarelo (*A. lacustris*) com idade inicial de dois meses (peso:  $2,43 \pm 0,86$  g; comprimento total:  $5,14 \pm 0,68$ ), que foram distribuídos e cultivados em oito tanques de polietileno de 1000 litros. Os peixes foram submetidos a dois sistemas: tecnologia de bioflocos e recirculação com água clara (controle) com o delineamento inteiramente ao acaso. Foi considerado a relação C:N de 12:1 para desenvolvimento dos bioflocos. A alimentação foi realizada com base na porcentagem 3% da biomassa total de cada tanque, sendo corrigida mensalmente e diminuída para 1% quando os animais completaram quatro meses de vida. Foram analisados parâmetros de ganho de biomassa, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, sobrevivência, taxa de eficiência proteica, fatores de condição, índice hepatossomático (IHS), índice gonadossomático (IGS), análises bromatológicas dos bioflocos e corporal dos peixes, histologia de gônada e características seminais. O IGS foi superior para os animais do cultivo em RAS no terceiro mês. O IHS foi superior no sistema BFT nos últimos dois meses. A composição corporal dos lambaris apresentou diferenças em relação valor de extrato etéreo que foi maior em machos da tecnologia BFT, enquanto os animais do sistema RAS obtiveram maior porcentagem de proteína bruta e cinzas. Todas as gônadas analisadas histologicamente estavam aptas a reprodução. Na primeira coleta a qualidade seminal dos animais cultivados em RAS foi superior quanto as variáveis de progressividade total e espermatozoides rápidos, na segunda coleta quanto à frequência de batimento flagelar e aos quatorze meses os animais do RAS tiveram espermatozoides com maior motilidade total, VSL (Velocidade curvilinear), VSL (Velocidade linear) e VAP (Velocidade média de trajetória). De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que o sistema de bioflocos é eficiente para o cultivo e manutenção de reprodutores de *Astyanax lacustris*, porém com leve melhoria da qualidade seminal para os machos mantidos no sistema RAS.

## 2 CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Tecnologia de bioflocos (BFT)

Estima-se que em breve a população mundial chegará a nove bilhões de pessoas em poucos anos, portanto um dos grandes desafios no setor de produção alimentícia é o desenvolvimento de metodologias sustentáveis para a produção agropecuária, que tenham grande produtividade e menor impacto possível ao meio ambiente (FAO, 2020). Para o setor alimentício, a carne de peixe é um alimento de alta qualidade que apresenta baixos teores de gordura e altos teores de aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas (FAO, 2016) e em relação a produção de organismos aquáticos, o relatório da FAO referente ao ano de 2008 (FAO, 2009) já considerava que o setor da produção piscícola no Brasil poderia ser um dos maiores produtores mundiais de pescado a curto prazo.

Atualmente a maioria da produção de peixes de água doce realizada no Brasil tem base em sistemas de produção que utilizam viveiros escavados e tanques-rede. Nestes sistemas são necessários a utilização de alta quantidade de água de boa qualidade e este fato pode se tornar um grande entrave na questão de produção sustentável, pois se não forem seguidos manejos adequados de produção podem afetar a biodiversidade local e a qualidade de água de forma negativa, uma vez que, os insumos, medicamentos e excretas dos animais podem ser potenciais poluentes (SCHULTER; VIEIRA FILHO, 2017).

Dentre as tecnologias sustentáveis para produção de peixes, uma que vem ganhando bastante destaque é a tecnologia de bioflocos (BFT), visto que é um sistema alternativo que possibilita criação em locais com restrição de espaço e de disponibilidade de água (VICENTE, 2014). Trata-se de um sistema fechado de cultivo e que para uma mesma quantidade de produção, quando comparado ao sistema tradicional (tanque escavado) com água clara, economiza cerca de 50 mil litros de água/dia, reduz custos com captação de água, elimina problemas com descarte de efluentes e possibilita economia no fornecimento de ração (AVNIMELECH, 2014; WASIELESKY, 2014).

Na BFT se utiliza a relação C:N para conversão de resíduos nitrogenados, formando massas de conglomerados microbianos como fitoplâncton, bactérias e partículas orgânicas vivas e mortas (AHAMAD *et al.*, 2017). Essa conversão é realizada em duas etapas, sendo a primeira, a oxidação da amônia em nitrito que é efetuada por bactérias amônia oxidantes e a segunda, é a metabolização do nitrito em nitrato

realizada pelas bactérias nitrato oxidantes (FENCHEL; BLACKBURN, 1979). Para o desenvolvimento desse processo essas bactérias precisam de íons de carbonato e bicarbonato como nutrientes, ocorrendo então, consumo de alcalinidade (EBELING *et al.* 2006). A alcalinidade tem influência direta no pH da água, que tem a faixa entre 7 e 9 como ideal para o desenvolvimento das bactérias nitrificantes (CHEN *et al.*, 2006). Outros parâmetros de grande importância para o processo de formação da biomassa microbiana são temperatura e oxigênio, pois segundo Burforf (2003) o oxigênio no ambiente, além de ser importante para os animais, é fundamental para respiração dos microorganismos presentes na água e de acordo com Cervantes *et al.* (2000) a faixa ótima de temperatura é entre 15 e 32°C.

Essa biomassa fornece uma fonte complementar de alimento, que contém também diversos compostos bioativos que são úteis para melhorar os valores indicadores de bem-estar animal e apresenta compostos derivados que servem como probióticos e imunostimulantes naturais (AHAMAD *et al.*, 2017). A biomassa microbiana produzida no sistema BFT possui uma vasta gama de nutrientes como, proteínas, lipídeos, carboidratos, ácidos graxos, vitaminas e fibras, que poderão complementar as necessidades nutricionais dos peixes de cultivo.

O estado nutricional dos peixes é uma importante variável que está atrelada diretamente ao processo reprodutivo destes, possibilitando o funcionamento adequado dos órgãos que controlam hormonalmente a reprodução, o desenvolvimento das gônadas e a produção dos gametas (NAVARRO *et al.*, 2010; CRAB *et al.*, 2012). Os bioflocos apresentam nutrientes que são apresentados como adequados para sua utilização como alimento na piscicultura, mas ainda são necessários mais estudos sobre a composição de ácidos graxos e aminoácidos neste alimento natural, já que ácidos graxos essenciais que influenciam na produção de prostaglandina, e a associação de qualidade proteica com a concentração de ácidos graxos altamente insaturados, resultaram em melhor desempenho reprodutivo em diversas espécies de peixes. (BELL *et al.* 1997; IZQUIERDO *et al.*, 2001; CRAB *et al.*, 2010a).

Estudos com espécies nativas do Brasil cultivadas em sistema de bioflocos são escassas e publicações científicas que correlacionem o cultivo em sistema de bioflocos com qualidade seminal e desempenho reprodutivo para nativos não foram encontradas. Como este sistema de cultivo é interessante para preservação ambiental e apresenta características técnicas importantes para o contínuo desenvolvimento da produção piscícola, sendo necessário que mais estudos relacionados sejam feitos, para que

certifiquemos que a BFT, não só seja eficiente na engorda de peixes, como também na manutenção de reprodutores, dando assim maior suporte para maior desenvolvimento da piscicultura de espécies nativas do país.

## **2.2 Tecnologia de recirculação (RAS)**

O sistema de recirculação é visto como um sistema sustentável de produção, pois permite que sejam produzidos organismos aquáticos durante todo o ano, com boa capacidade de estocagem, capacitando o controle de variáveis climáticas em pequenos espaços e permitindo a reutilização de água após processos de purificação (TIMMONS & EBELING, 2010). Por ser um sistema de produção fechado é considerado um sistema de maior biossegurança pois, diferente dos sistemas abertos, impede que ocorram fuga de espécies exóticas para o meio externo e minimiza também a disseminação de microorganismos patógenos nos ecossistemas locais (HELDBO, 2015).

Este sistema utiliza até 99% menos água do que um sistema de cultivo tradicional, pois ocorre a reutilização da mesma água que é tratada através de cultivos físico-químicos mecânicos ou biológicos. Este tratamento tem como base a nitrificação e desnitrificação da amônia, onde as bactérias nitrificantes oxidam a amônia até transformá-la em nitrato, componente este, com menor toxicidade para os organismos do cultivo (SLIEKERS *et al.*, 2002; MICHELS, 2011; NAZAR *et al.*, 2013).

O RAS tem mostrado projeções interessantes para o cultivo de espécies exóticas e nativas, tanto por questões ambientais, quanto por questões de grande eficiência produtiva (SOUSA *et al.*, 2020; MEDINA *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021), indicando, portanto, que estudos na área são fundamentais para desenvolvimento piscícola nacional e mundial.

## **2.3 *Astyanax lacustris***

Trata-se de uma espécie de pequeno porte com tamanho entre 7,8 e 10,4 cm de comprimento total, ciclo de vida rápido, com boa adaptação para produção em cativeiro, onívoro com predominância para o consumo de detritos e vegetais superiores, reproduz

o ano todo, desde que, com prevalência nos meses quentes, apresentando desova descontínua, periódica e anual (NOMURA, 1975; AGOSTINHO *et al.*, 1984; SANTOS *et al.*, 1991; RODRIGUES *et al.*, 1992; EVANGELISTA, 2015) (Figura 1).

A reprodução em cativeiro do lambari pode ser realizada de forma natural ou por meio de indução hormonal, permitindo assim o controle total do processo reprodutivo: ovulação e espermição e fertilização, possibilitando o monitoramento das fases de fertilização e eclosão das larvas, facilitando o gerenciamento da produção de larvas, da alevinagem e da engorda (ANDRADE & YASUI, 2003; PORTO-FORESTI *et al.*, 2010).

**Figura 1** – Exemplar de *Astyanax lacustris*.



Fonte: Arquivo pessoal.

Com o passar dos anos o lambari tem ganhado espaço na produção aquícola brasileira e hoje é visto como uma espécie de alta capacidade produtiva (ABIMORAD & CASTELLANNI, 2011). O lambari é aceito na culinária como petisco e na pesca esportiva como isca viva, na pesca de peixes carnívoros de maior porte (GARUTTI, 2003). Sua produção apresentou grande aumento entre o ano de 2013 e 2020 como apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1** – Comparação da produção de lambari (quilograma) no Brasil nos anos de 2013 e 2020.

| Variável - Produção da aquicultura (Quilogramas) |         |
|--------------------------------------------------|---------|
| Brasil                                           |         |
| Tipo de produto da aquicultura - Lambari         |         |
| Ano                                              |         |
| 2013                                             | 2020    |
| 255.635                                          | 631.173 |
| Fonte: IBGE - Pesquisa da Pecuária Municipal     |         |

Fonte: IBGE (2022).

#### 2.4 Avaliação de parâmetros ligados a produção e reprodução

O ganho de biomassa é um dos fatores mais utilizados na produção piscícola e se trata da quantidade de animais produzido vezes o peso médio deles e este dado é bastante correlacionado à conversão alimentar, que faz referência a quantidade de ração que foi aproveitada pelos animais e convertida em massa corporal (MOHSENI *et al.*, 2006; PEREIRA, 2021).

O conhecimento da composição corporal do peixe é necessário para sua aceitação no mercado competitivo e em questão reprodutiva, esta composição tem grande influência no desenvolvimento do aparelho reprodutivo, portanto ter essas informações pode facilitar a correlação do estado nutricional do indivíduo à sua capacidade de mobilização energética para manutenção de suas atividades fisiológicas (BAZZOLI *et al.*, 1996; DE BRITTO *et al.*, 2014).

Para o monitoramento do desenvolvimento zootécnico e reprodutivo dos peixes, são utilizados como indicadores o índice de fator de condição e, os índices hepatossomático e gonadossomático. O Fator de condição (LE CREN, 1958), é uma forma de indicar o bem-estar dos peixes, refletindo condições recentes aos quais tenham

sido submetidos, sendo considerados nesse sentido, por exemplo, condições ambientais e alimentação tendo influência direta aos aspectos reprodutivos do animal (AGOSTINHO, 1990) e este fator é determinado pela razão entre a massa total do indivíduo e o seu comprimento total, podendo ser calculado com ou sem o peso da gônada. A diferença entre o valor do fator de condição com e sem influência de gônada é chamado de fator de condição gonadal (VAZZOLER, 1996) e pode ser utilizado para observar o período reprodutivo do peixe, podendo ter relação direta com os índices gonadosossômico e hepatossômico (BRANCO, 1992).

O índice gonadosossômico é a relação percentual da massa da gônada em relação a massa do animal e é utilizado como indicador do período reprodutivo dos peixes, devido ao fato de que a maturação das células reprodutivas ocorre juntamente com aumento da massa das gônadas (AGOSTINHO *et al.*, 1990). Índice hepatossômico é a relação percentual do peso de fígado em relação ao peso do animal e é utilizado como forma indicativa de estoque de energia, que no caso é o glicogênio (CYRYNO *et al.*, 2000; NAVARRO, *et al.* 2006). Este índice é importante quando relacionado ao fator de condição e índice gonadosossômico, uma vez que, sua reserva energética é fonte de metabólitos para maturação gonadal.

O indicador reprodutivo mais utilizado para machos em peixes é a avaliação seminal. As análises das características da morfologia espermática e análise de aspectos da motilidade dos espermatozoides, são pontos imprescindíveis para avaliação da qualidade seminal. Quanto as análises de motilidade espermática, até a poucos anos atrás somente eram realizadas por meio de avaliação subjetiva (MATOS, 2008), porém essa avaliação mesmo sendo eficiente, propiciava variações de 30 a 60% nos resultados, pois depende da experiência do observador, como também da limitação do olho humano em quantificar as diferentes subpopulações espermáticas de uma amostra (AMANN; HAMMERSTEDT, 1980; VERSTEGEN *et al.*, 2002). Por conta de as análises subjetivas apontarem grandes variações, desde o início da década de 40 começaram a ser desenvolvidas metodologias para avaliações mais seguras e objetivas quanto a qualidade seminal de uma amostra (MATOS, 2008).

Em 1985 foi desenvolvido o primeiro sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) para comercialização (MACK *et al.* 1988) tornando as análises seminais mais acuradas, práticas e rápidas (MATOS, 2008). O sistema CASA permite a observação, digitalização, análise sucessiva de imagens capturadas e, apesar o flagelo ser a estrutura

necessária para motilidade, a avaliação dos sistemas automáticos é realizada a partir do movimento da cabeça (AMANN; KATZ, 2004). Este sistema também tem capacidade para avaliar outras características em uma amostra seminal, como a morfologia do gameta, concentração espermática e a integridade de membrana (MATOS, 2008). Os parâmetros cinéticos avaliados por este sistema são: Velocidade Curvilínea (VCL) que avalia a velocidade da trajetória do espermatozoide; Velocidade Linear Progressiva (VSL) que analisa a velocidade obtida entre o ponto inicial e o ponto final da trajetória do espermatozoide; Velocidade Média de Trajetória (VAP), responsável pela averiguação da velocidade média de espermatozoides que apresentam trajetórias irregulares; Amplitude de Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH) que representa a amplitude de deslocamento da cabeça do espermatozoide; Frequência de Batimento Flagelar Cruzado (BCF) que indica a quantidade de vezes que o espermatozoide transpassa a direção de seu movimento; Retilinearidade (STR) que é a associação percentual entre VSL e VAP, estima a proximidade do percurso da célula a uma linha reta; e Linearidade (LIN) que apresenta a associação percentual entre VSL e VCL (VERSTEGEN *et al.*, 2002).

A partir das avaliações citadas é possível observar a qualidade seminal em pontos como a hiperativação espermática que está ligado ao processo de capacitação e fertilização (VERSTEGEN *et al.*, 2002), os danos espermáticos que podem ser ocasionados por agentes físicos ou químicos, por meio de análise morfológica (VERSTEGEN *et al.*, 2002; GARCIA-HERREROS *et al.*, 2006) e a fertilidade que pode ser correlacionada com os parâmetros cinéticos (MATOS, 2008).

## **2.5 Objetivos**

### **2.5.1 Geral**

O objetivo deste projeto foi avaliar desempenho zootécnico e reprodutivo no cultivo de *Astyanax lacustris* em dois sistemas de cultivo: tecnologia de bioflocos (BFT) e sistema de recirculação de água clara (RAS).

### 2.5.2 Específicos

- Analisar o desempenho zootécnico de *A. lacustris* mantidos em sistema BFT e em sistema RAS;
- Avaliar desenvolvimento gonadal de machos de *A. lacustris* mantidos em sistema BFT e em sistema RAS;
- Verificar histologicamente se a metodologia de cultivo interferiu no desenvolvimento de gônadas de machos de *A. lacustris*;
- Avaliar se os sistemas de cultivo BFT e RAS influenciariam na qualidade espermática de machos de *A. lacustris*;
- Determinar se os bioflocos influenciam na composição corporal de *A. lacustris*;
- Determinar da composição nutricional dos bioflocos.

## REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CASTELLANI, D. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 37, p. 31-38.2011.
- AGOSTINHO, A. A.; BARBIERI, G.; VERANI, J. R. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis áspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) no Rio Paranapanema, Porecatu, PR. **Ciência e Cultura (Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência)**, [s. l.], v. 42, p. 711-714, 1990.
- AGOSTINHO, C. A.; MOLINARI, S. L.; AGOSTINHO, A. A.; VERANI, J. R. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (L) (Osteichthyes-Characidae) do rio Ivaí, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 44, p. 31-16, 1984.
- AHAMAD, I.; RANI, A. M. B.; VERMA, A. K.; MAQSOOD, M. Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. **Aquaculture international**, Dordrecht, v. 25, p. 1215-1226, 2017 Doi: 10.1007/s10499-016-0108-8.
- ALVARENGA, E. R.; SALES, S. C. M.; BRITO, T. S.; SANTOS, C. R.; CORRÊA, R. D. S.; ALVES, G. F. O.; MANDUCA, L. G.; TURRA, E. M. Effects of biofloc technology on reproduction and ovarian recrudescence in Nile tilapia. **Aquaculture Research**, Amsterdam, p. 1-8, 2017. Doi: 10.1111/are.13420.
- AMANN R.P.; HAMMERSTEDT R.H. Validation of a system for computerized measurements of spermatozoal velocity and percentage of motile sperm. **Biology of Reproduction**, Cary, v. 23, p. 6478-645, 1980.
- AMMAN, R. P.; KATZ, D. F.; Reflection on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, Schaumburg, v. 25, n. 3, p. 317-325, 2004.
- ANDRADE, D.R., YASUI, G.S. O Manejo Da Reprodução Natural e Artificial e Sua Importância Na Produção De Peixes No Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, [s. l.], n. 27, v. 2, p. 166-172, 2003.
- AVNIMELECH, Y. **Produção de tilápia com uso de tecnologia de bioflocos (BFT)**. 2014. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/producao-de-tilapia-com-bioflocos/>. Acesso em: 6 set. 2021.
- BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SANTOS, J. E. dos; SATO, Y. Dinâmica da ovogênese de peixes forrageiros da Represa de Três Marias, Minas Gerais: estudo histológico e histoquímico. **Bios**, [s. l.], v.4, p.5-10, 1996.
- BELL, J. G.; FARNDAL, B. M.; BRUCE, M. P.; NAVAS, J. M.; CARILLO, M. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 149, p. 107-119, 1997.

BRANCO, J. O.; LUNARDON, M. J.; AVILA, M. G.; MIGUEZ, C. F. Interação entre fator de condição e índice gonadosomático como indicadores do período de desova em *Callinectes danae* SMITH (CRUSTACEA, PORTUNIDAE) da lagoa da conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 9, p. 175-180, 1992.

BRITTO, A. C. P.; ROCHA C. B.; TAVARES R. A.; FERNANDES, J. M.; PIEDRAS S. R. N.; POUEY, J. O. L. O. F. Rendimento corporal e composição química do filé da viola (*Loricariichthys anus*). **Cienc. Anim. Bras.**, Goiânia, v.15, n.1, p. 38-44, 2014.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H; PEARSON D. C. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 219, p.393-411, 2003.

CERVANTES-CARRILLO, F.; PÉREZ, J.; GÓMEZ, J. Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, Mexico City, v. 42, p. 73-82. 2000.

CHEN, S., LING, J., & BLANCHETON, J.-P. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. **Aquacult. Eng.**, [s. l.], v. 34, p. 179-197, 2006.

CRAB, R.; CHIELENS, B.; WILLE, M.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**, Amsterdam, v. 41, p. 559–567, 2010a.

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc Technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, Amsterdam, p. 351-356, 2012. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046.

CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; MARTINO, R. C. Retenção de proteína e energia em juvenis de “Black Bass” *Micropterus Salmoides*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 54, n. 4, p. 609-616, 2000.

EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia – nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 257, p. 346-358, 2006.

EKASARI, J.; ZAIRIN, J. R. M.; PUTRI, D. U.; SARI, N. P.; SURAWIDJAJA, E. H.; BOSSIER, P. Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. broodstock. **Aquaculture research**, Chichester, p. 509 – 512, 2013. DOI: 10.1111/are.12185.

EMERENCIANO, M.; CUZON, G.; ARÉVALO, M.; GAXIOLA, G. Biofloc technology applied to intensive broodstock farming of pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Part II): spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile. **Aquaculture Research**. Chichester, 2012. DOI: 10.1111/are.12117.

EMERENCIANO, M.; CUZON, G.; GOGUENHEIM, J.; GAXIOLA, G. Flocculation contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. **Aquaculture Research**. Amsterdam, 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.03012.x).

EVANGELISTA, M. M. **Manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução induzida de *Astyanax altiparanae* durante o inverno**. 2015. 49 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca.) - Instituto de Pesca – APTA, 2015.

FENCHEL, T., BLACKBURN, T. H. **Bacteria and mineral cycling**. London: Academic, 1979.

GARCIA-HERREROS M.; APARICIO I. M.; BARON F. J.; GARCÍA-MARÍN L. J.; GIL M. C. Standardization of samples preparation, staining and sampling methods for automated sperm head morphometry analysis of boar spermatozoa. **International Journal of Andrology**, Chichester, v. 29, p. 553-563, 2006.

GARUTTI, V. **Piscicultura ecológica**. São Paulo: Editora UNESP, 2003. 332 p.

HELDBO, J. Sistemas de Recirculação: a vanguarda da Aquicultura Dinamarquesa. **Panorama da Aquicultura**, Budapest, v. 25, n. 148, p. 14-23, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. **Produção de lambari**. Brasília, DF, 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940>. Acesso em: 23 abr. 2022.

IZQUIERDO, M. S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, p. 25-42, 2001.

LE CREN. Observations on the growth of perch (*Perca Fluviatilis L.*) over twenty-two years with special reference to the effects of temperature and changes in population density. **Journal of Animal Ecology**, Chichester, n. 2, v. 27, p. 287-344, 1958.

MACK S.O.; WOLF D.F.; TASH J.S. Quantitation of specific parameters of motility in large numbers of human sperm by digital image processing. **Biology of Reproduction**, Cary, v. 38, p. 270-281, 1988.

MATOS, D. L.; ARAÚJO, A. A.; TONIOLLI, R. R. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 4, p. 225-232, 2008.

MEDINA, L. S., EMERENCIANO, M. G. C., BITTENCOURT, F., & MELLO, G. L. Growth of *Geophagus brasiliensis* reared at different temperatures and feeding regimes. **Boletim do Instituto de Pesca**, Branca, v. 47, p. 616, 2021. DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2021.47.e616>

MICHELS, C. *et al.* **Utilização de tiosulfato como doador de elétrons para remoção de nitrogênio via nitrificação e desnitrificação autotrófica em reator SBR.** 2011. 135 f. Dissertação de mestrado (Programa de Pós -graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

MOHSENI, M.; POURKAZEMI, M.; BAHMANI, M.; FALAHATKAR, B.; POURALI, H. R.; SALEHPOUR, M. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of 39 yearlings great sturgeon, *Huso huso*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 22, p. 278-282, 2006. Doi: 10.1111/j.1439-0426.2007.00968. x.

NAVARRO, R. D.; da SILVA, R. F.; FILHO, O. P. R.; CALADO, L. L.; REZENDE, F. P.; SILVA, C. S.; SANTOS, L. C. Comparação morfométrica e índices somáticos de machos e fêmeas de lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jereynys, 1842) em diferente sistema de cultivo. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 24, n. 2, p. 165-176, 2006.

NAVARRO, R. D.; NAVARRO, F. K. S. P.; SEIXAS FILHO, J. T.; RIBEIRO FILHO, O. P. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixes. **Revista Augustus**, Alexandria, n. 30, p. 108-118, 2010.

NAZAR, A.K.A.; JAYAKUMAR, R.; TAMILMANI, G. **Recirculating aquaculture systems**. [S. l.], 2013.

NOMURA, H. Alimentação de três espécies do gênero *Astyanax* Baird & Girard, 1854 (Osteichthyes, Characidae) do rio Mogi-Guaçu, SP. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 35, p. 595 – 614, 1975.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO. **El estado mundial de la pesca y La acuicultura**. Roma. 2020. 224 p.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA – FAO. **El estado mundial de la pesca y La acuicultura**. Rome. 2009. 196 p.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA – FAO. **El estado mundial de la pesca y La acuicultura**. Rome. 2016, 224 p.

PEREIRA, L. D. S. **Cultivo de tambaquis: biometria e variáveis físicoquímicas da água em unidade de produção familiar de Barreiras**. 2021. 41 f. Monografia (Engenharia Agrônômica) – Universidade do Estado da Bahia, 2021.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. Hibridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Org). **Espécies nativas para piscicultura no Barsil**. 2 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2010. v.1, p. 589-601.

RODRIGUES, A. M.; CAMPOS, E. C.; DOS SANTOS, R. A.; JÚNIOR, J. M.; CAMARA, J. J. C. Tipo de desova e fecundidade do tambuí *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Pisces, Characiformes, Characidae), na Represa de Ibitinga. **Brazilian Journal veterinarian Research and Animal Science**. São Paulo, v. 29, p. 309-315, 1992.

SANTOS, F. A. C., BOAVENTURA, T. P., JULIO, G. S. C., CORTEZZI, P. P., FIGUEIREDO, L. G., FAVERO, G. C., PALHETA, G. D. A., MELO, N. F. A. C., & LUZ, R. K. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): Importance of stocking density and classification. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 534, p. 736274, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736274>.

SANTOS, H. K., DIAS, P. S., BALEN, R. E., ZADINELO, I.V., BOMBARDELLI, R. A., & MEURER, F. Crescimento e biologia de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em um sistema de criação em recirculação de água. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 7, 32827-32848, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-821>.

SANTOS, R. A.; CAMPOS, E. C.; CAMARA, J. J. C.; MANDELLI JÚNIOR, J. (1991). Curvas de maturação gonadal e crescimento de fêmeas de tambuí, *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Characiformes, Characidae), na represa de 24 Ibitinga, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.18, p 1-11, 1991.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. [S. l.]: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2017. 42 p.

SLIEKERS, A. Olav *et al.* Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. **Water Research**, Oxford, v. 36, n. 10, p. 2475-2482, 2002.

SOUSA, R. M., SILVA, R. R. S., SANTOS, A. S., SILVA, C. V., MAGALHÃES, J. A., & FOGAÇA, F. H. S. Tambatinga juveniles performance in a recirculation aquaculture system with diferente stocking densities. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 9, n. 5, p. 178953317, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3317>.

TIMMONS, M. B., EBELING, J. M. **Recirculating aquaculture**. 2nd edition. Ithaca: Cayuga Aqua Ventures, 2010.

VAZZOLER, A. E. A. de M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos**. 20 ed. Maringá: EDUEM, 1996. 196 p.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer Assisted sêmen analysers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 57, p. 149-179, 2002.

VICENTE, A. L. **Sistema de cultivo em meios heterotróficos (bioflocos)**. 2014. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/bioflocos-2/> . Acesso em: 15 ago. 2021.

WASIELESKY, W. Sistema Bioflocos: custos com criação de camarões podem cair até 30%. 2014. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/> . Acesso em: 15 ago. 2021.

### 3 CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE LAMBARIS (*ASTYANAX LACUSTRIS*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE BIOFLOCOS E EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO COM ÁGUA CLARA

#### RESUMO

Foram utilizados um total de 1600 indivíduos juvenis de lambari-do-rabo-amarelo com idade inicial de dois meses. Os peixes foram submetidos a dois sistemas: tecnologia de bioflocos (BFT) e recirculação com água clara (RAS) com o delineamento inteiramente ao acaso. A alimentação foi realizada com base na porcentagem 3% da biomassa total de cada tanque e diminuída para 1% quando os animais completaram quatro meses de vida. O fator gonadal e IGS foi superior para os animais do cultivo em RAS no terceiro mês de cultivo, porém todas as gônadas analisadas histologicamente, dos animais do BFT e RAS, estavam aptas a reprodução. O IHS foi superior no sistema BFT no terceiro meses de cultivo. Os machos do BFT obtiveram maior porcentagem de matéria seca e extrato etéreo em sua composição corporal, enquanto os animais do sistema RAS obtiveram maior porcentagem de proteína bruta e cinzas. Aos cinco meses de idade os animais do RAS obtiveram as variáveis de progressividade total e espermatozoides rápidos e frequência de batimento flagelar superiores aos machos do BFT. Aos quatorze meses de idade aos animais do RAS tiveram espermatozoides com maior motilidade total, VSL (Velocidade curvilínea), VSL (Velocidade linear) e VAP (Velocidade média de trajetória) comparados aos animais do BFT. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que o sistema de bioflocos é eficiente para o cultivo e manutenção de reprodutores de *Astyanax lacustris*, porém com leve melhoria da qualidade seminal para os machos mantidos no sistema RAS.

**Palavras-chave:** aquicultura sustentável; características seminais; cinética espermática; reprodução de peixes.

#### ABSTRACT

A total of 1600 juvenile lambari-do-rabo-amarelo with an initial age of two months were used. Fish were subjected to two systems: biofloc technology (BFT) and clear water recirculation (RAS) with a completely randomized design. Feeding was performed based on the percentage 3% of the total biomass of each tank and reduced to 1% when the animals completed four months of life. The gonadal factor and IGS were superior for the animals of the RAS culture in the third month of culture, but all the gonads analyzed histologically, from the animals of the BFT and RAS, were capable of reproduction. The IHS was higher in the BFT system in the third month of cultivation. BFT males had a higher percentage of dry matter and ether extract in their body composition, while RAS animals had a higher percentage of crude protein and ash. At five months of age, the RAS animals obtained the variables of total progressivity and fast spermatozoa and frequency of flagellar beating superior to the males of the BFT. At fourteen months of age, the RAS animals had sperm with higher total motility, VSL (Curvilinear Velocity), VSL (Linear Velocity) and VAP (Average Trajectory Velocity) compared to the BFT animals. According to the results obtained, it can be concluded that the biofloc system is efficient for the cultivation and maintenance of *Astyanax lacustris* reproducers, but with a slight improvement in seminal quality for males kept in the RAS system.

**Keywords:** fish reproduction; sustainable aquaculture; seminal traits; sperm kinetics.

### 3.1 Introdução

A tecnologia de bioflocos (BFT) tem como princípio a transformação de compostos nitrogenados dissolvidos na água, mediante a adição de fontes de carbono e, através dessa transformação, ocorre uma produção de biomassa microbiana na água, que pode ser aproveitada pelos animais e geralmente apresentam alto teor de proteína bruta (FÓES, GAONA, POERSCH, 2012). Esta tecnologia vem apresentando vantagens no cultivo de camarões como o aumento da produtividade, utilização de menores áreas de cultivo, aumento da biossegurança, diminuição ou isenção da renovação de água, maior estabilidade do sistema, diminuição da quantidade de proteína nas rações, maior disponibilidade de alimento natural, comunidade microbiana atuando como probiótico, menores unidades de cultivo com maior controle, menor impacto ambiental e possibilidade de cultivo em regiões afastadas da costa no caso de espécies marinhas (WASIELESKY *et al*, 2013).

Com peixes foi possível constatar que os exóticos como carpa e tilápia se adaptam bem ao BFT (SAMPAIO *et al*, 2011) e que estudos ou aplicação de espécies nativas brasileiras em bioflocos são poucos ou nulos (ABAD *et al.*, 2014; POLI *et al.*, 2015; BARRERO *et al.*, 2012; SGNAULIN *et al.*, 2018; DANTAS *et al.*, 2018). Não foi encontrado estudo de lambaris cultivados em tecnologia de bioflocos, porém trata-se de um peixe de pequeno porte, com ciclo de vida rápido, e boa adaptação para produção em cativeiro, que é definido como onívoro com predominância para o consumo de detritos e vegetais superiores e que possui boa aceitação no mercado, podendo ser vendido como petisco, isca para pesca esportiva ou matéria-prima para produção de farinha de peixe (NOMURA, 1975; AGOSTINHO *et al.*, 1984; SANTOS *et al.*, 1991; PORTO-FORESTI *et al.*, 2001; HAYASHI *et al.*, 2004; SALARO *et al.*, 2008; EVANGELISTA, 2015), características então que o tornam um peixe interessante para estudos dentro deste sistema.

Emereciano *et al.* (2011) ressaltam que os componentes contidos no sistema de bioflocos influenciam para formação da gônada em animais jovens e que a disponibilidade contínua de alimento pode promover a incorporação de nutrientes essenciais resultando em uma melhor atividade de formação e produção de tecidos

sexuais. Estudos com o camarão azul (*Litopenaeus stylirostris*) e o camarão rosa (*Farfantepenaeus dourarum*) também demonstraram resultados interessantes quando comparados ao sistema tradicional de cultivo, com aumento do número de ovos e da atividade de desova e, com isso, foi suposto que essa melhoria ocorreu devido ao melhor controle dos parâmetros físico-químicos da água, juntamente com a disponibilidade contínua de nutrientes proporcionada pelos bioflocos, sob a forma de ácidos graxos, vitaminas, fosfolipídios e proteínas, enquanto em sistemas convencionais os animais ficam limitados à alimentação fornecida (ração) (EMERECIANO *et al.*, 2011; EMERECIANO *et al.*, 2012). Estudos recentes em torno da reprodução com peixes neste sistema heterotrófico apresentam resultados superiores para as variáveis do ciclo reprodutivo, morfologia dos ovários, fecundidade e desempenho reprodutivo de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (EKASARI *et al.*, 2013; ALVARENGA *et al.*, 2017).

A escassez de informações correlacionando reprodução e BFT torna importante essa pesquisa desenvolvida e, com isso, a mesma teve como objetivo verificar se houve diferença no desenvolvimento reprodutivo nos machos de lambari cultivados em tecnologia de bioflocos e em sistema de recirculação com água clara.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Local e animais**

Para o estudo, foram utilizados exemplares alevinos de *Astyanax lacustris*, pertencentes ao Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Ilha Solteira, onde foi realizado o experimento. O experimento foi realizado dentro das normas para uso de animais em estudos científicos após aprovação pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA- FEIS/UNESP 02/2021).

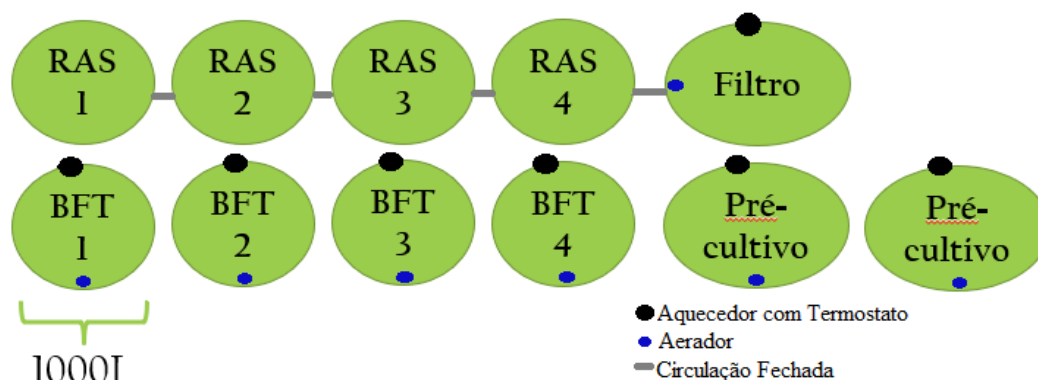
### **3.2.2 Delineamento experimental**

O experimento foi conduzido por um período de um ano (365 dias), iniciando com a seleção de 1600 juvenis de *Astyanax lacustris* com idade de dois meses (peso inicial:

2,43±0,86 g; comprimento total: 5,14±0,68; comprimento padrão: 4,28±0,61), que foram distribuídos em dois sistemas de produção: tecnologia de bioflocos (BFT) e recirculação (RAS). Em casa sistema foram utilizados quatro tanques de 1000 L (quatro unidades experimentais) compostos tanques de 1000L cada, caracterizando quatro repetições por tratamento.

O sistema de recirculação com água clara (RAS) foi composto por quatro tanques em sistema de circulação fechada, com aeração contínua e aquecedor com termostato para controle de temperatura (27°C), o sistema bioflocos (BFT) foi composto por quatro tanques individualizados, com aeração contínua e aquecedor com termostato para controle da temperatura (27°C) em cada um deles, sendo o delineamento experimental inteiramente ao acaso (Figura 1).

**Figura 1** – Representação dos Sistemas de Cultivo.



Nota: \*RAS – Sistema de recirculação de água clara; BFT – Sistema de bioflocos.

Fonte: Próprio autor.

### 3.2.3 Pré-cultivo de bioflocos

Foram montados dois tanques (1000 L) para o pré-cultivo de água com bioflocos, antes do início de período experimental. Os dois tanques de 1000 litros foram preenchidos com água clara, com aeração individual contínua, onde foram inseridos 25 lambaris adultos. Nos primeiros dez dias de cultivo foram adicionados diariamente 300 gramas de melaço em pó e, após esse período, o melaço de cana foi adicionado com base na relação C:N 12:1, quando a concentração de amônia tóxica ultrapassava 1 mg/L

<sup>1</sup>, utilizando o cálculo de correção (AVNIMELECH, 1999; AVNIMELECH, 2007; SAMOCHA *et al*, 2007). Para as unidades experimentais da BFT foi utilizado 10% de água de um BFT previamente formado e 90% de água clara.

### **3.2.4 Alimentação e análise de água**

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (09:00 a.m. e 17:00 p.m.), com ração comercial de 32% de PB, inicialmente na proporção de 3% da biomassa total e aos quatro meses de idade dos animais houve readequação de alimentação para 1% da biomassa total de peixes/ tanque/dia. Mensalmente foi realizada biometria de 20% dos animais de cada tanque para correção da quantidade de ração fornecida a serem fornecido a estes.

Parâmetros de qualidade de água como: oxigênio dissolvido (OD), temperatura (°C) e pH foram analisados duas vezes por dia (09:00 a.m. e 17:00 p.m.) com utilização equipamento multiparâmetro (AKSO – AK88). As concentrações de amônia, nitrito e nitrato foram avaliadas três vezes por semana (às 08:30 p.m., antes da primeira alimentação do dia) utilizando kit Labcon Test Amônia Tóxica - Água Doce, Kit Labcon Test Nitrito - Água Doce e KitNutriflora Test Nitrato - Água Doce. Ao início do experimento foi adicionado 1 kg de sal (NaCl) em cada tanque de BFT, para controle do Nitrito.

Nas unidades com sistema de bioflocos, o ajuste da quantidade de carbono foi feito pela adição do melaço em pó, utilizando a relação C:N 12:1 e foi realizada mensuração de sólidos suspensos sedimentáveis (SS) ( $\text{mL L}^{-1}$ ) uma vez por semana (entre 07:00 a.m. e 9:00 a.m.). Para mensuração de sólidos suspensos sedimentáveis foram coletadas, de cada unidade experimental, amostras de 1000 mL da água de cultivo em cone Imhoff, que eram deixadas imóveis em estrutura adequada por uma hora até que os sólidos decantassem e fossem feitas as leituras em  $\text{mL.L}^{-1}$  através da marcação presente no cone.

### 3.2.5 Coletas e variáveis analisadas

As análises de qualidade de água, desempenho zootécnico, determinação de índice gonadossomático, índice hepatossomático, fatores de condição, análise histológica de gônada e análise seminal foram realizadas nos três primeiros meses experimentais. Após um ano de experimento repetiu-se apenas as análises seminais que eram o foco do estudo em questão.

#### 3.2.5.1 Desempenho zootécnico

Mensalmente, nos três primeiros meses de cultivo, 20% dos peixes de cada tanque foram pesados (g), com balança de precisão (0,1 g de precisão) e medidos os comprimentos total e padrão (cm) com paquímetro (precisão 0,02 mm) e, a partir destes dados, foram calculados o ganho de biomassa, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica, com vistas a avaliar o desempenho de *A. lacustris*, sendo ao final quantificados os seguintes itens:

Ganho de Biomassa Total (GBT) = (Biomassa média final - Biomassa média inicial)

Taxa de Crescimento Específico (TCE) =  $[100 \times (\ln \text{ do peso final} - \ln \text{ do peso inicial}) / (\text{tempo de cultivo})]$ ;

Taxa de sobrevivência (S) =  $[100 \times (\text{população final} - \text{população inicial})]$ ;

Conversão Alimentar Aparente (CAA) = (Quantidade de alimento fornecido / ganho de biomassa);

Taxa de eficiência proteica (TEP) =  $\frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{proteína bruta consumida}}$

### 3.2.5.2 Análise bromatológica dos bioflocos e análise bromatológica corporal dos peixes

Para que verificação da composição química nutricional dos bioflocos e o que alterou na composição estrutural dos peixes foram realizadas análises bromatológicas dos bioflocos e dos peixes inteiros (machos) ao final do terceiro mês de cultivo (animais com cinco meses de idade), tanto do sistema RAS, como do BFT. As amostras de bioflocos foram coletadas ao final do experimento com auxílio de uma rede feita de tecido de nylon branco de 68 micras que capturou somente os flocos para análise e para análise dos peixes inteiros, foram amostrados oito machos de cada tanques. As amostras foram armazenadas em recipientes de plástico identificados e conservados em congelador a -10° C para as posteriores análises.

Os bioflocos e os peixes coletados (com vísceras) foram moídos para determinação de matéria seca, cinzas, porcentagem de proteína bruta pelo método Kjeldahl e porcentagem de gordura pelo método de Soxhlet de acordo com a metodologia da A. O. A. C. (2000).

Os bioflocos dos quatro tanques de cultivo apresentaram valores médios 6,65% de matéria seca, 45,71% de cinzas, 0,61% de extrato etéreo e 20,36% de proteína bruta (Tabela 1).

**TABELA 1** – Análise bromatológica dos bioflocos.

| Tanque   | Componentes |        |        |        |
|----------|-------------|--------|--------|--------|
|          | MS (%)      | CZ (%) | EE (%) | PB (%) |
| <b>1</b> | 6,03        | 45,63  | 0,62   | 20,45  |
| <b>2</b> | 7,13        | 46,55  | 0,45   | 20,72  |
| <b>3</b> | 7,37        | 47,36  | 0,62   | 19,35  |
| <b>4</b> | 6,05        | 43,29  | 0,73   | 20,93  |

Nota: MS = Matéria seca; CZ = Cinzas; EE = Extrato etéreo; PB = Proteína bruta.

Fonte: Próprio Autor

### 3.2.5.3 Determinação dos Índices Gonadosomático, Índice Hepatosomático e Fatores de Condição

Foram realizadas coletas de fígado e gônada dos machos no primeiro, segundo e terceiro mês de cultivo (quando os animais tinham três, quatro e cinco meses de idade respectivamente). Foram amostrados três machos de cada tanque, totalizando doze gônadas e doze fígados coletados por mês de cada sistema. Os animais foram eutanasiados por meio de exposição prolongada à solução de benzocaína (1g de benzocaína:10 mL de álcool absoluto) sendo extraídos os órgãos, para análise.

Os parâmetros analisados foram:

Fator de condição (K) =  $Wt/Lt^b$  (Vazzoler, 1996);

Fator de condição sem a influência da massa de gônada (K') =  $Wc/Lt^b$  (Vazzoler, 1996).

Fator de condição gonadal ( $\Delta K$ ) =  $K - K' = Wg/Lt^b$  (Vazzoler *et al.*, 1989b).

Wt = Massa total (g);

Lt = Comprimento total (mm);

b = Coeficiente angular da regressão entre Wt/Lt;

Wg = Massa da gônada (g);

Wc (Massa corporal – massa da gônada) =  $Wt - Wg$ .

Índice Hepatosomática (IHS%) = [(Massa do fígado (g)/massa total do peixe (g) X 100].

Índice gonadosomático (IGS%) = [(Massa da gônada (g)/massa total do peixe (g) X 100].

### 3.2.5.4 Análise histológica de gônadas

Foram processadas e analisadas oito gônadas dos machos que chegaram com dois meses de idade e depois, mensalmente, oito gônadas por sistema de cultivo. As amostras foram seccionadas e fixadas em solução de 4% e glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato Sorensen 0,1 M a pH 7,2 (Karnovsky). Posteriormente secções da região

medial dos testículos foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (70% e 95%) incluídos em glicol metacrilato historesina (LEICA ®), seccionados a 3.0µm de espessura com auxílio do micrótomo (LEICA RM 2145; Leica Instruments GmbH, Nussloch Heidelberg, Alemanha) equipado com lâmina de vidro (LEICA RM 2245) e coradas em Hematoxilina e Eosina (HE). Para o fotoprocessamento e análises foi utilizado microscópio de luz Zeiss - Scope.A1 equipado com câmera AXIOCAM MRC5. Para a caracterização das fases do ciclo reprodutivo seguiu-se o proposto por Brown-Peterson *et al.* (2011).

#### 3.2.5.5 *Análise dos caracteres reprodutivos*

Foram realizadas coletas de sêmen ao final do terceiro mês de cultivo (quando os animais tinham cinco meses de idade) e após doze meses de cultivo (quando os animais tinham quatorze meses de idade), mantidos nas condições acima descritas para o BFT e RAS.

Para obtenção do sêmen, cinco machos de cada tanque foram capturados, anestesiados com anestesia (2 g de eugenol:20 mL de álcool absoluto), pesados, medidos com ictiômetro e submetidos à indução hormonal. A aplicação foi feita na base da nadadeira peitoral e para indução foi aplicado extrato de hipófise de carpa (EBHC) na dosagem de 3 mg/kg de peixe vivo, diluída em soro fisiológico, em dose única (BEM *et al.* 2012; YASUI *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2017; CARNEIRO-LEITE *et al.*, 2020). A liberação dos gametas foi controlada utilizando a relação hora-grau de 226 UTA para extrusão, quando o sêmen foi retirado por massagem abdominal no sentido antero-posterior e disposto em microtubo limpo e esterilizado.

#### 3.2.5.6 *Aspectos cinéticos da motilidade espermática*

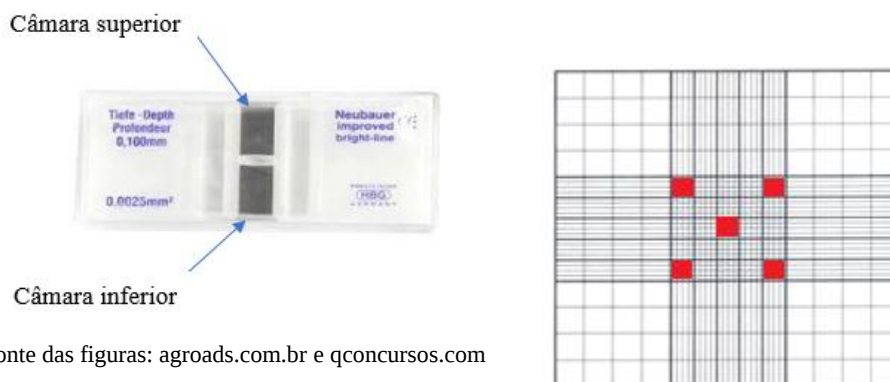
Foi utilizado o sistema C.A.S.A. (ISAS® Integrated Semen Analysis System, Proiser, Valência, Espanha), composto por um computador acoplado a uma câmera analógica (ISAS 782C, Proiser, Espanha) conectada a um microscópio (UB200i (UOP / Proiser) com um objetiva de contraste de fase negativa de 10x. O software foi calibrado

para captura de 25 imagens / segundo (FPS), considerando a velocidade espermática mínima de  $10\mu\text{m/s}$ , sendo que as capturas ocorreram a cada 10 segundos após a ativação do sêmen com água destilada. Os parâmetros cinéticos avaliados foram: Motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e as velocidades espermáticas: velocidade curvilínea (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ); velocidade linear (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ); velocidade média (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ); porcentagem de espermatozoides rápidos, médios e lentos; coeficiente de linearidade (LIN, %; calculado como  $\text{VSL/VAP}$ ); coeficiente de retilinearidade (STR, %; calculado como  $\text{VSL/VCL}$ ); oscilação média da trajetória espacial do espermatozoide, oscilação e WOB (%); amplitude do movimento lateral da cabeça (ALH,  $\mu\text{m}$ ); frequência de batimento flagelar (BCF, Hz). Para a análise seminal o sêmen era disposto em uma Câmara de Makler (Sefi – Medicals Instruments), sendo ativado com água destilada na proporção 1:30  $\mu\text{l}$  (sêmen:ativador).

### 3.2.5.7 Concentração espermática (espermatozoides/ $\text{mm}^3$ )

Para estimar a concentração espermática, foi utilizada a câmara hematóimétrica tipo Neubauer Improved (Bright-line; HBG). O sêmen foi coletado de três exemplares por tanque e diluído em solução de formol-salina na proporção de 1:1000  $\mu\text{l}$  (sêmen:solução). A contagem foi realizada em cinco quadrados da câmara superior e cinco quadrados da câmara inferior, como demonstrado na figura 2.

**Figura 2** – Delineamento da contagem dos espermatozoides.



Os dados obtidos de cada espécime eram colocados na equação abaixo para determinação da concentração espermática média individual.

$$Sptz/mL = [(\sum n ((\sum grade superior + inferior / 2) \sum 3 repetições por amostra / 3)) * 50.000^{\#}] * 1000$$

<sup>#</sup> Fator de diluição 1:1000.

### 3.2.6 Análises estatísticas

As variáveis dependentes foram submetidas aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de Levene para homogeneidade de variâncias. Foi utilizado o Peso inicial (g) como covariável para analisar Peso final (g), Ganho de massa (g), Ganho de massa diário (g), Conversão Alimentar Aparente. Foi utilizado a Biomassa inicial como covariável para analisar Biomassa final (kg) e o Ganho de biomassa (kg). Foram utilizados o Comprimento Total inicial (cm) e o Comprimento Padrão Inicial (cm) como covariável para analisar Comprimento total final (cm) e o Comprimento Padrão Final (cm) respectivamente. Sendo verificado normalidade e homogeneidade de variâncias, as variáveis dependentes foram analisadas por um modelo com uma variável independente (Anova - One Way). Cada caixa foi considerada como uma unidade experimental e cada tratamento recebeu quatro caixas. Todas as análises foram feitas seguindo as recomendações de Zar (2010) e utilizando o Sistema de Análise Estatística (Sas, 2002). O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 0,05.

## 3.3 Resultados

### 3.3.1 Qualidade de água

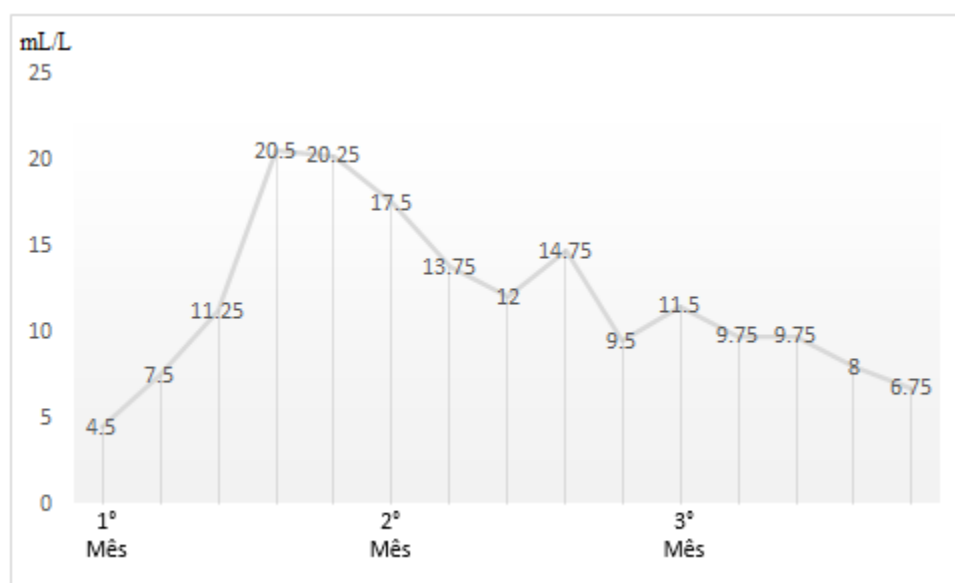
Os parâmetros de oxigênio dissolvido, temperatura e pH não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre os cultivos BFT e RAS (Tabela 2) e no cultivo de bioflocos os sólidos sedimentáveis do sistema de bioflocos estiveram entre 4,5 mL/L e 20,5 mL/L, sendo os picos mais elevados no primeiro mês experimental (Figura 3).

**Tabela 2.** Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) dos parâmetros de qualidade de água dos cultivos do lambari-de-rabo-amarelo *Astyanax lacustris* em tecnologia de bioflocos e recirculação durante os três meses.

| SISTEMA | PARÂMETROS                 |                  |                 |
|---------|----------------------------|------------------|-----------------|
|         | Oxigênio Dissolvido (mg/L) | Temperatura (°C) | pH              |
| BFT     | 6,59 $\pm$ 1,07            | 25,92 $\pm$ 2,39 | 8,64 $\pm$ 0,28 |
| RAS     | 6,74 $\pm$ 0,93            | 26,47 $\pm$ 2,27 | 8,65 $\pm$ 0,33 |

Fonte: Próprio autor

**Figura 3** – Variação dos sólidos sedimentáveis (mL/L) na tecnologia de bioflocos aos quais os machos de *Astyanax lacustris* foram submetidos

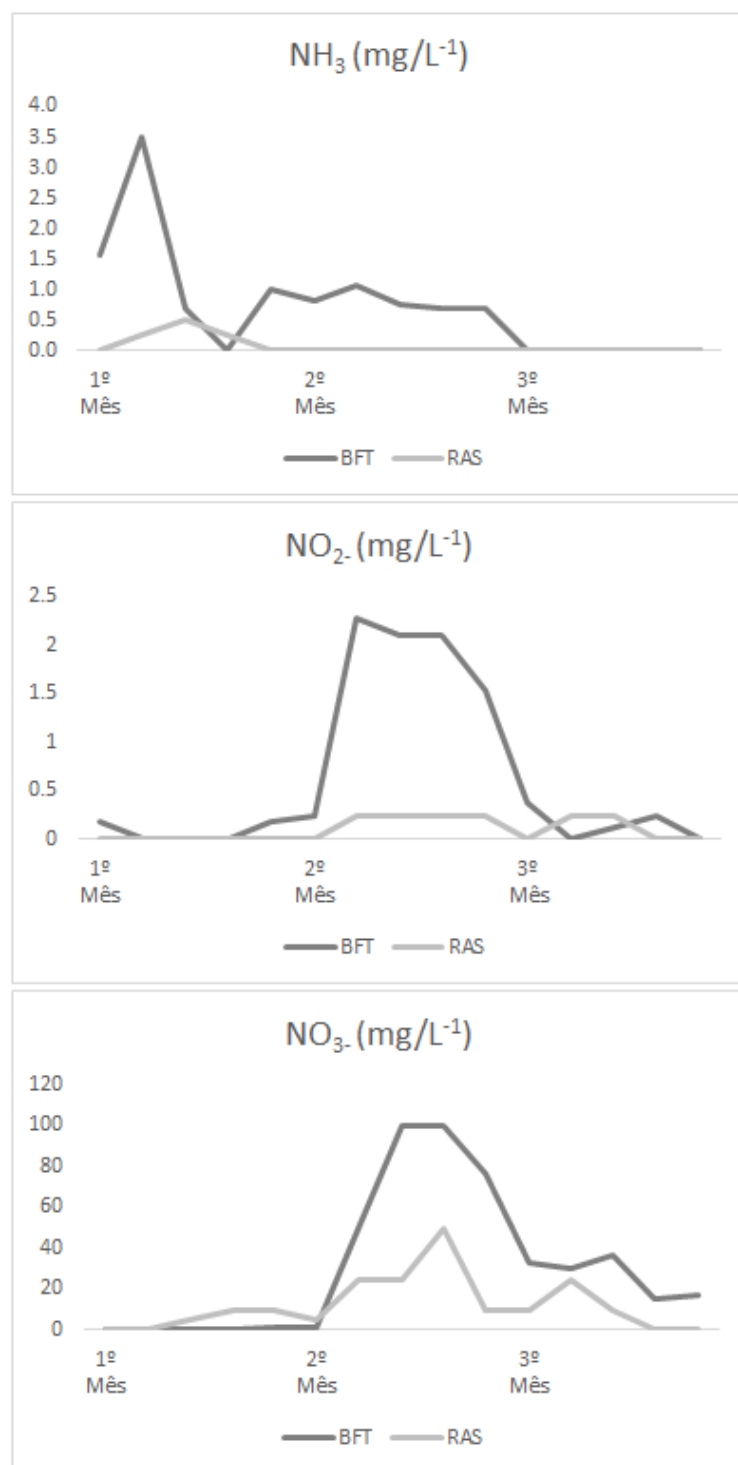


Fonte: Próprio autor

No primeiro mês experimental a amônia ( $\text{NH}_3$ ) do sistema de recirculação variou entre 0 e  $0,5 \text{ mg/L}^{-1}$  e posteriormente zerou e não tornou a aumentar, enquanto na tecnologia de bioflocos o maior pico foi no primeiro mês chegando a  $3,5 \text{ mg/L}^{-1}$  e depois baixou e teve valor máximo de  $1,0 \text{ mg/L}^{-1}$ . O nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) do sistema de recirculação ficou entre 0 e  $0,5 \text{ mg/L}^{-1}$  durante os três meses e no BFT os valores mais altos foram apresentados no segundo mês após o valor da amônia baixar, chegando a  $2,2 \text{ mg/L}^{-1}$  e baixando no início do terceiro mês. Os valores de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) tiveram maior conformidade entre os dois sistemas, aumentando no segundo mês chegando a  $100 \text{ mg/L}^{-1}$  no BFT e  $50 \text{ mg/L}^{-1}$  no RAS e baixando no terceiro mês obtendo os valores

máximos de  $36,2 \text{ mg/L}^{-1}$  na tecnologia de bioflocos e  $25,0 \text{ mg/L}^{-1}$  na tecnologia de recirculação (Figura 4).

**Figura 4** – Variação dos compostos nitrogenados ( $\text{mg/L}^{-1}$ ) nos tanques experimentais aos quais os machos de *Axtyanax lacustris* foram cultivados



Fonte: Próprio autor

### 3.3.2 Desempenho Zootécnico

Após três meses de cultivo o ganho de biomassa total não diferiu ( $P>0,05$ ) entre os sistemas de produção em BFT ( $5,23\pm0,24$  kg) e RAS ( $5,37\pm0,68$  kg). Da mesma forma, a conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e os fatores de condição com e sem influência da gônada não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os dois sistemas de produção. No entanto, o índice hepatossomático foi maior ( $P=0,007$ ) nos peixes produzidos em BFT ( $0,90\pm0,21$  %) em relação aos peixes produzidos em RAS ( $0,64\pm0,21$  %) (Tabela 3).

**Tabela 3** – Parâmetros biológicos (média±desvio padrão) de lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax lacustris* (cinco meses de idade) após três meses de cultivo sob tecnologia de bioflocos e recirculação com água clara.

| Características | Sistema                |                        | Valor P | CV (%) |
|-----------------|------------------------|------------------------|---------|--------|
|                 | BFT                    | RAS                    |         |        |
| <b>GBT (kg)</b> | 5,23±0,24              | 5,37±0,68              | 0,575   | 6,13   |
| <b>CAA</b>      | 1,92±0,08              | 1,98±0,32              | 0,666   | 9,62   |
| <b>TCE (%)</b>  | 1,28±0,04              | 1,30±0,04              | 0,636   | 3,31   |
| <b>TEP (%)</b>  | 0,86±0,03              | 0,83±0,14              | 0,895   | 11,12  |
| <b>IHS (%)</b>  | 0,90±0,21 <sup>a</sup> | 0,64±0,21 <sup>b</sup> | 0,007   | 12,27  |
| <b>K</b>        | 1,17±0,14              | 1,22±0,06              | 0,14    | 3,51   |
| <b>K'</b>       | 1,14±0,14              | 1,19±0,06              | 0,18    | 3,59   |
| <b>SOB (%)</b>  | 100                    | 100                    | -       | -      |

Nota: GBT = Ganho de biomassa total; CAA = Conversão alimentar aparente TCE = Taxa de crescimento específico; TEP = Taxa de eficiência proteica; IHS = Índice hepatossomático; K = Fator de condição sob influência do peso de gônada; K' = Fator de condição sem influência do peso de gônada; SOB = Sobrevivência. Médias na mesma linha diferem estatisticamente entre si quando  $P<0,05$ .

Fonte: Próprio autor

### 3.3.3 Bromatologia dos Peixes

A matéria seca e extrato etéreo foram maiores ( $P=0,001$  e  $P=0,0004$ , respectivamente) nos peixes produzidos em BFT comparativamente aos peixes produzidos em RAS. Por outro lado, cinza ( $P=0,006$ ) e proteína foram maiores ( $P=0,025$ ) nos peixes produzidos em RAS.

**Tabela 3** – Análise bromatológica corporal de machos de *Astyanax lacustris* cultivados em tecnologia de bioflocos e recirculação (média±desvio padrão).

| Sistema        | Componentes             |                         |                         |                         |
|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                | MS (%)                  | CZ (%)                  | EE (%)                  | PB (%)                  |
| <b>BFT</b>     | 34,05±0,09 <sup>a</sup> | 12,84±0,61 <sup>b</sup> | 39,09±2,20 <sup>a</sup> | 49,68±1,94 <sup>b</sup> |
| <b>RAS</b>     | 30,88±0,47 <sup>b</sup> | 14,69±0,10 <sup>a</sup> | 30,88±2,45 <sup>b</sup> | 53,35±1,63 <sup>a</sup> |
| <b>Valor P</b> | 0,001                   | 0,006                   | 0,0004                  | 0,025                   |
| <b>CV (%)</b>  | 1,75                    | 4,30                    | 7,50                    | 4,25                    |

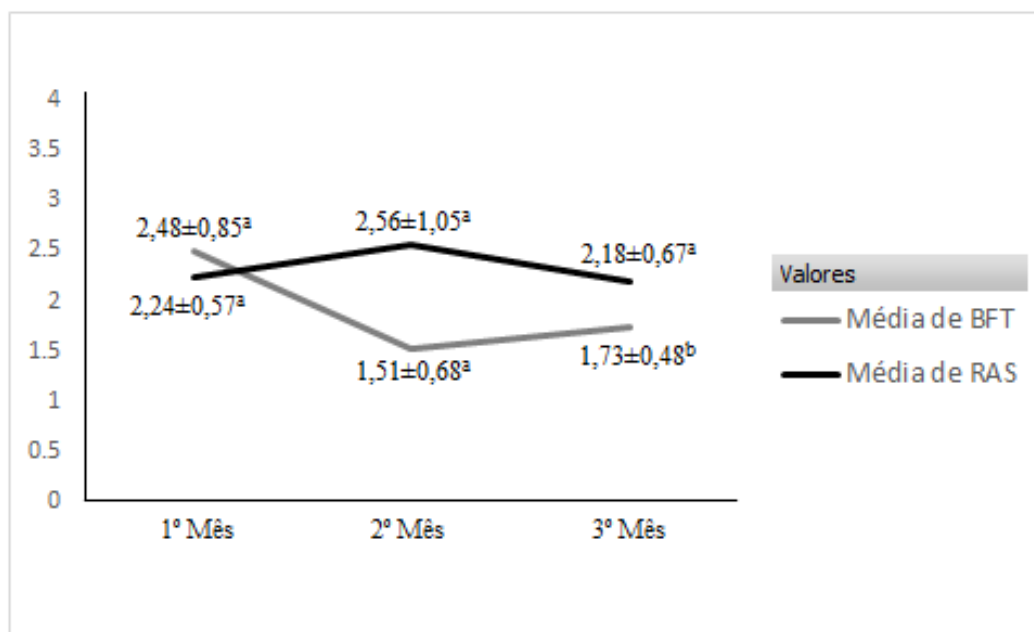
Nota: MS = Matéria seca; CZ = Cinzas; EE = Extrato etéreo; PB = Proteína bruta. Médias na mesma coluna diferiram estatisticamente entre si quando  $P < 0,05$ .

Fonte: Próprio autor

### 3.3.4 Índice Gonadossomático e Fator de Condição Gonadal

Não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre os fatores de condição gonadal entre os animais dos dois sistemas de cultivo, porém o índice gonadossomático foi superior ( $P = 0,031$ ) no sistema de Recirculação (RAS) no terceiro mês de cultivo (Figura 5).

**Figura 5** – Índice gonadossomático de machos de *Astyanax lacustris* cultivados em tecnologia de bioflocos e recirculação (média±desvio padrão)



Nota: Letras minúsculas fazem comparação entre as médias do sistema BFT e RAS a cada mês. Médias diferiram estatisticamente entre si quando  $P < 0,05$ . Fonte: Próprio autor

### 3.3.5 Análise histológica das gônadas

Todos os animais que tiveram suas gônadas analisadas apresentaram foram classificados como aptos à reprodução, mostrando também que os animais do estudo já haviam desenvolvido os testículos desde o início do experimento e o sistema de cultivo avaliados de cultivo testados possibilitaram que os animais realizassem seu ciclo reprodutivo, em suma tivessem o desenvolvimento das células espermáticas adequadamente.

### 3.3.6 Qualidade Seminal

No final do terceiro mês de cultivo, os lambaris criados em água clara (RAS) apresentaram valores maiores para aos parâmetros de cinética espermática de: progressividade ( $P=0,048$ ), porcentagem de espermatozoides rápidos ( $P=0,042$ ) e, frequência de batimento flagelar ( $P=0,010$ ). Enquanto para os parâmetros de motilidade total, quantidade de espermatozoides médios e lentos, velocidade curvilinear, velocidade linear e velocidade média de trajetória, coeficiente de linearidade, coeficiente de retilinearidade, oscilação média da trajetória espacial do espermatozoide, amplitude do movimento lateral da cabeça e concentração não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4).

**Tabela 4** – Parâmetros de qualidade seminal de lambari-do-rabo-amarelo (cinco meses de idade), no terceiro mês de cultivo em BFT e RAS.

| Características | Sistema                 |                         |         |       |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|---------|-------|
|                 | RAS                     | BFT                     | Valor P | CV    |
| MOT (%)         | 75,45±0,19              | 57,08±0,11              | 0,061   | 16,29 |
| PROG (%)        | 56,97±0,17 <sup>a</sup> | 40,68±0,09 <sup>b</sup> | 0,048   | 18,09 |
| SPTZ RAP (%)    | 53,72±0,17 <sup>a</sup> | 33,91±0,14 <sup>b</sup> | 0,042   | 23,52 |
| SPTZ MÉD (%)    | 15,51±0,07              | 15,44±0,05              | 0,977   | 21,02 |
| SPTZ LEN (%)    | 6,21±0,02               | 7,72±0,02               | 0,138   | 17,41 |
| VCL (µm/s)      | 59,25±7,29              | 51,02±7,00              | 0,065   | 8,93  |
| VSL (µm/s)      | 49,82±6,77              | 43,22±5,58              | 0,083   | 9,30  |
| VAP (µm/s)      | 55,98±7,57              | 48,48±6,00              | 0,079   | 9,21  |
| LIN (%)         | 84,71±2,90              | 83,70±3,47              | 0,425   | 1,95  |
| STR (%)         | 88,83±2,06              | 88,30±2,63              | 0,567   | 1,38  |

|                                       |                        |                        |       |       |
|---------------------------------------|------------------------|------------------------|-------|-------|
| <b>WOB (%)</b>                        | 95,30±1,39             | 94,72±1,28             | 0,322 | 0,79  |
| <b>ALH (µm)</b>                       | 1,21±0,04              | 1,20±0,05              | 0,588 | 2,54  |
| <b>BCF (Hz)</b>                       | 7,49±0,22 <sup>a</sup> | 7,36±0,17 <sup>b</sup> | 0,010 | 0,63  |
| <b>CONC (x10<sup>9</sup> sptz/mL)</b> | 8,16±3,07              | 10,28±1,67             | 0,150 | 19,09 |

Nota: BFT = MOT = Motilidade total; PROG = Prograssividade; SPTZ RAP = Espermatozóides rápidos; SPTZ MÉD = Espermatozóides médios; SPTZ LEN = Espermatozóides lentos; VCL = Velocidade curvilínea; VSL = Velocidade linear; VAP = Velocidade média de trajetória; LIN = Coeficiente de linearidade; STR = Coeficiente de retilinearidade; WOB = Oscilação média da trajetória espacial do espermatozoide; ALH = Amplitude do movimento lateral da cabeça; BCF = Frequência de batimento flagelar; CONC = Valor de concentração espermática x10<sup>9</sup>. Médias na mesma linha diferem estatisticamente entre si quando P<0,05.

Fonte: Próprio autor

Após um ano de cultivo, os lambaris criados em água clara (RAS) com quatorze meses de idade apresentaram valores significativamente maiores para os fatores motilidade (P=0,031), velocidade curvilínea (P=0,028), velocidade linear (0,023) e velocidade média de trajetória (P=0,049), enquanto na tecnologia BFT o único fator maior foi de quantidade de espermatozoides de velocidade média (P=0,034) (Tabela 5).

**Tabela 5** – Parâmetros de qualidade seminal de lambari-do-rabo-amarelo (quatorze meses de idade), no décimo segundo mês de cultivo em BFT e RAS. (média±desvio padrão).

| <b>Características</b> | <b>Sistema</b>           |                         |                |           |
|------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------|-----------|
|                        | <b>RAS</b>               | <b>BFT</b>              | <b>Valor P</b> | <b>CV</b> |
| <b>MOT (%)</b>         | 85,95±0,07 <sup>a</sup>  | 80,4±0,04 <sup>b</sup>  | 0,031          | 7,05      |
| <b>PROG (%)</b>        | 68,1±0,07                | 61,0±0,05               | 0,096          | 10,20     |
| <b>SPTZ RAP (%)</b>    | 72,15±0,23               | 57,90±0,09              | 0,198          | 28,18     |
| <b>SPTZ MÉD (%)</b>    | 8,85±0,22 <sup>b</sup>   | 14,55±0,06 <sup>a</sup> | 0,034          | 131,89    |
| <b>SPTZ LEN (%)</b>    | 4,80±0,02                | 4,55±0,02               | 0,212          | 41,63     |
| <b>VCL (µm/s)</b>      | 75,05±13,02 <sup>a</sup> | 63,0±5,52 <sup>b</sup>  | 0,028          | 15,71     |
| <b>VSL (µm/s)</b>      | 62,70±12,76 <sup>a</sup> | 52,80±4,79 <sup>b</sup> | 0,023          | 17,93     |
| <b>VAP (µm/s)</b>      | 69,90±13,35 <sup>a</sup> | 58,80±5,57 <sup>b</sup> | 0,049          | 17,14     |
| <b>LIN (%)</b>         | 85,25±4,21               | 82,80±2,37              | 0,325          | 3,96      |
| <b>STR (%)</b>         | 89,95±2,06               | 88,35±2,63              | 0,364          | 4,30      |
| <b>WOB (%)</b>         | 94,70±3,20               | 94,10±0,79              | 0,344          | 2,42      |
| <b>ALH (µm)</b>        | 1,10±0,03                | 1,10±0,00               | 0,449          | 1,82      |

|                                       |            |            |       |       |
|---------------------------------------|------------|------------|-------|-------|
| <b>BCF (Hz)</b>                       | 14,5±0,82  | 14,21±0,55 | 0,371 | 4,81  |
| <b>CONC (x10<sup>9</sup> sptz/mL)</b> | 12,90±4,75 | 10,93±5,12 | 0,546 | 38,29 |

Nota: BFT = MOT = Motilidade total; PROG = Prograssividade; SPTZ RAP = Espermatozóides rápidos; SPTZ MÉD = Espermatozóides médios; SPTZ LEN = Espermatozóides lentos; VCL = Velocidade curvilinear; VSL = Velocidade linear; VAP = Velocidade média de trajetória; LIN = Coeficiente de linearidade; STR = Coeficiente de retilinearidade; WOB = Oscilação média da trajetória espacial do espermatozoide; ALH = Amplitude do movimento lateral da cabeça; BCF = Frequência de batimento flagelar; CONC = Valor de concentração espermática x10<sup>9</sup>. Médias na mesma linha diferem estatisticamente entre si quando P<0,05. Fonte: Próprio autor

### 3.4 Discussão

Neste estudo *Astyanax lacustris* é uma espécie que se adaptou na tecnologia BFT, com potencial produtivo a ser explorado, como demonstrado pelos parâmetros biológicos obtidos que indicaram uma similaridade do conjunto de respostas quando comparado ao sistema tradicional de cultivo (RAS). Os animais foram cultivados em ambientes que atendem as necessidades para *A. lacustris* em relação a valores de oxigênio dissolvido, temperatura, como observado nos trabalhos de desenvolvimento de larvas da espécie (STEVANATO; OSTRENSKY, 2018; DOS SANTOS *et al.* 2020) e condições de sua ocorrência natural onde se reproduz (MERÇON, 2021), apesar do pH estar ligeiramente acima do observado para os referidos autores. Na tecnologia de bioflocos, Emereciano *et al.* (2017) indicam que o nível de sólidos sedimentáveis para criação de alevinos de Tilápia-do-Nilo devem estar entre 5 e 20 mL<sup>-1</sup>, portanto os valores dos sólidos sedimentáveis deste estudo estiveram dentro dessa faixa. Os fatores de condição, com e sem influência de gônada, são bons indicadores de bem-estar dos peixes (AGOSTINHO, 1990) e pelo fato de não ter havido diferença neste indicador entre os animais dos dois sistemas, juntamente com o fato de não ter havido mortalidade, é possível considerar que os animais se desenvolveram em ambientes com parâmetros de qualidade de água adequados.

Peixes onívoros têm menor exigência de proteínas, devido ao fato de terem intestino com maior comprimento, com o alimento ficando em contato com enzimas por um tempo maior (BOOTH *et al.*, 2013). Sendo os lambaris onívoros eles não apresentam necessidade de alimento com alto valor de proteína para seu desenvolvimento (COTAN *et al.*, 2006), como observado por Massago e Silva (2020)

ao estudarem níveis proteico (26,5%, 28,6% e 31,2% de PB) para o *Astyanax bimaculatus*. Os peixes se desenvolveram de forma semelhante para os índices de massa final, ganho de massa semanal, taxa de crescimento específico e produtividade. Como o crescimento foi semelhante nos dois sistemas, RAS e BFT, é possível considerar que *A. lacustris* criado em sistema BFT pode ser testado com menores taxas de arraçamento ou com ração que contenha menor porcentagem de proteína bruta e vale ressaltar que a alimentação equivale de 60 a 70% do custo na produção de peixes e a proteína é o item mais caro na dieta dos animais, o que seria uma forma de baratear custos (SILVA; MASSAGO, 2019; SENAR, 2019).

Os valores mais altos de índice hepatossomático para os animais do sistema BFT já eram esperados, uma vez que, a alta quantidade de proteína (ração + biomassa do bioflocos) disponível no ambiente pode ocasionar um aumento de peso no fígado, já que este órgão é um dos principais sítios de desaminação dos aminoácidos (BOMBARDELLI *et al*, 2003). O fígado é o órgão que apresenta diversas funções no organismo, como secreção biliar, metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas, hematopoese durante fase larval e produção de anticorpos (HIBIYA, 1982) e segundo Costa (2005) o fígado possui atividade metabólica que ocorre a partir da alimentação dos animais e das reservas energéticas dispostas no organismo, relacionando peso de fígado com metabolismo do animal. Cyrino *et al* (2000) demonstraram dados que dietas com teores médios de 42% de proteína bruta ocasionaram um aumento de acúmulo de glicogênio hepático, e aumento do índice hepatossomático em juvenis de Black Bass *Micropterus salmoides*, assim como um estudo com tilápia do Nilo (ABDEL-TAWWAB *et al.*, 2010) concluíram que o excesso de proteína na alimentação foi desaminada e utilizada como fonte de energia e este acúmulo interferiu na desaminação por parte de enzimas, já que não houve uma necessidade de mobilização destes aminoácidos para suprimento de demandas energéticas e isto ocasionou excesso de glicose que foi armazenada como glicogênio no fígado, aumentando o índice lipossomático no peixe, que por fim, acumulou maior taxa de gordura visceral nos animais, portanto, corrobora com os dados observados neste experimento, em que os maiores índices hepatossomáticos foram dos peixes do sistema de bioflocos que apresentaram maior porcentagem de extrato etéreo em sua composição corporal.

Os valores de IHS podem ser relacionados com uma provável utilização do fígado como órgão para reserva energética e, o aumento do IGS juntamente com a diminuição

do IHS pode ser ocasionado por uma possível mobilização de proteínas e lipídeos do fígado para as gônadas com intuito de auxílio no desenvolvimento gonadal em fêmeas (SAYER *et al.*, 1995), porém, para machos, o estudo de Barreto *et al.* (1998) indicou que essa correlação inversa entre IHS e IGS não deve ser levada em consideração, como também notado por Cardoso *et al.* (2013), já que em períodos reprodutivos os machos demonstraram tendência semelhante de IHS e IGS e neste estudo em questão é possível que a alimentação tenha sido o fator de maior influência para maior IHS dos animais do BFT, pois eles tiveram acesso as partículas de bioflocos constantemente, que poderiam servir de alimento e neste estudo foi observado através de histologia que os animais de ambos os sistemas tiveram desenvolvimento de gônadas adequado.

O valor de índice gonadosomático foi mais alto no segundo e terceiro meses experimentais para os peixes do sistema de recirculação que apresentaram uma menor concentração de extrato etéreo (gordura) em sua composição corporal. O fator de condição gonadal tem como fundamento expressar a transferência de reservas para as gônadas, indicando período reprodutivo (ISAAC NAHUM; VAZZOLER, 1983; VAZZOLER, *et al.*, 1989) e corroborando com o valor mais alto de índice gonadosomático encontrado no mês de junho para os peixes do sistema de recirculação. Para os peixes *Salminus hilarii*, a gordura abdominal apresenta uma relação inversa com IGS, indicando que existe uma influência disso no desenvolvimento dos gametas (ANDRADE *et al.*, 2004) e isso também é observado em outras diversas espécies de peixes (LAI; SINGH, 1987). Desta maneira, observando o desenvolvimento os peixes *A. lacustris* deste experimento, é possível notar que os animais com maior concentração de extrato etéreo no corpo, obtiveram menores índices gonadosomáticos, indicando que eles provavelmente realizaram pouca mobilização energética para desenvolvimento gonadal.

Segundo Porto-Foresti *et al.* (2010) a maturidade sexual de *A. lacustris* é atingida com a idade de 4 meses, porém os animais do presente estudo estiveram aptos a reprodução nos três meses de coleta, como demonstrado pelas análises histológicas realizadas. Fato este que pode estar relacionado a que a espécie tem um longo período reprodutivo, pela presença de fêmeas, como citado por Navarro (2006) para *Astyanax scabripinnis* e, pelas boas condições nutricionais e ambientais que foram proporcionadas.

A menor porcentagem de proteína e maior de extrato etéreo na composição corporal dos *Astyanax lacustris* machos cultivados no BFT pode ser explicada, pelos

animais estarem todo o período experimental com disponibilidade do bioflocos no ambiente (valor proteico médio de 20,36%), além do alimento artificial (ração com 32% de PB), já que os níveis de alimento acima do demandado, proporciona excesso energético (extrato etéreo) na alimentação que pode ocasionar o acúmulo de gordura visceral e muscular (NRC, 1993) e o excesso de proteína, que inicialmente é direcionada para a formação de tecido muscular, pode acabar sendo convertida em energia (NRC, 2011; FRACALOSSO; CYRINO, 2013; SAKOMURA *et al.*, 2014) acentuando o acúmulo de extrato etéreo na carcaça e o desbalanço com os níveis de proteína. Os peixes do sistema de recirculação obtiveram maior porcentagem de proteína na composição corporal, portanto maior porcentagem de tecidos musculares, quando comparado aos animais da tecnologia de bioflocos, pois segundo Guimarães & Adell (1995) a maioria das proteínas no organismo estão localizadas nos músculos e nos tecidos conectivos, constituindo de 16 a 22% da massa muscular, verificando-se então uma maior eficiência de conversão proteica dos peixes sob sistema de recirculação.

Quanto a qualidade do sêmen observada neste experimento, os melhores resultados obtidos nos peixes no sistema de recirculação podem estar associados a uma alimentação mais equilibrada que proporcionou uma menor porcentagem de extrato etéreo na composição corporal. Apesar dos peixes acumularem gordura para o início do processo de reprodução (VAZZOLER 1996; COSTA *et al.*, 2005; TELETCHIA *et al.*, 2009), para atender a demanda de ATPs necessárias para suportar a hiperatividade dos espermatozoides (Cosson *et al.*, 2008), o que tornaria o acúmulo de gordura um bom indicador, o excesso pode ser prejudicial à capacidade reprodutiva (DONELSON *et al.*, 2010; HAYDEN *et al.* 2018), o que poderia explicar os resultados observados.

Altos valores do índice de gordura celomática em *Astyanax scabripinnis paranae* foram observados sugerindo uma preparação do indivíduo para o período reprodutivo, por meio do acúmulo de reservas energéticas, preparando, assim, o peixe para o processo migratório, quando haverá necessidade de maior gasto energético (COSTA *et al.*, 2005). Assim sendo, o armazenamento inicial de gordura de machos como observado para Pike perch, *Sander lucioperca* (alto nível de reservas periviscerais) antes do início do ciclo reprodutivo é fortemente recomendado, sendo um importante fator na qualidade do espermatozoide, aumentando a concentração de espermatozoides, a motilidade, além de antecipar o momento de espermição no período da desova (TELETCHIA *et al.*, 2009). Entretanto, o excesso de gordura pode ser prejudicial à reprodução, visto que é conhecido que a obesidade diminui a taxa de fertilização para humanos em função de

uma menor concentração de esperma (HAYDEN *et al.*, 2018). Para *Acanthochromis polyacanthus* a proporção média de espermatozoides em gônadas masculinas alimentados diariamente com 1,0% do peso corporal, com uma ração de alto nível de proteína (55% de proteína, 9% gordura, 1,9% fibra), foi menor do que quando alimentados diariamente com 0,5% do peso corporal, quando cultivados a 30° C, enquanto o peso da gordura visceral mostrou comportamento inverso, sendo maior para a maior taxa de alimentação (DONELSON *et al.*, 2010), sendo essa, portanto, uma possível explicação para os animais do BFT terem valores inferiores para algumas características seminais importantes, quando comparados aos peixes do RAS, já que tiveram maior taxa de gordura corporal.

A maior porcentagem de espermatozoides rápidos nos animais de cinco meses, com maior valor de motilidade progressiva e maior frequência de batimento flagelar dos animais do sistema RAS, podem indicar uma melhor qualidade seminal. Maiores taxas de motilidade progressiva têm relação com maior índice de fertilidade em peixes segundo estudo de Gallego *et al.* (2013) e segundo Layek *et al.* (2016) uma das características que garantem maior eficácia de fertilização é a motilidade progressiva e em peixes a rapidez dos espermatozoides apresentam grande conexão com altos índices de fertilização e fecundação (RURANGWA *et al.*, 2004; GALLEGO *et al.*, 2013). O BCF é um parâmetro que se apresenta em espermatozoides com maior capacidade e hiperatividade e apesar de apresentar poucas referências bibliográficas que o ligam a melhor qualidade seminal, sabe-se que a velocidade do espermatozoide pode ser influenciada por este fator (GIL *et al.*, 2009; LÓPEZ, LEAL; VIVEIROS, 2015; NEUMANN *et al.*, 2017). Essas informações corroboram com o ocorrido neste estudo, já que a maior porcentagem de espermatozoides rápidos, foi do sêmen dos peixes em sistema RAS que apresentaram maior valor para o índice de frequência de batimento flagelar. A qualidade seminal está diretamente ligada com a capacidade de fertilização dos oócitos e a qualidade de gametas masculinos produzidos é influenciado por fatores como alimentação, fisiologia, bem-estar, genética e fatores ambientais (ESTAY *et al.*, 1994; VALDEBENITO *et al.*, 2013; ZIMBA, 2016). A maior porcentagem de espermatozoides rápidos, com maior valor de motilidade progressiva e maior frequência de batimento flagelar dos animais de cinco meses do sistema RAS, podem indicar uma melhor qualidade seminal.

Os animais com quatorze meses de idade do RAS apresentaram valores superiores para variáveis importantes ligados a qualidade seminal. Os parâmetros de motilidade e velocidade curvilinear refletem a condição fisiológica do espermatozoide (PEÑA; LINDE-FORSBERG, 2000; KOWALSKI; CEJKO, 2019) e a motilidade espermática geralmente é indicada como um dos fatores mais importantes relacionados ao sucesso na fertilização de um espermatozoide, porém é importante que sejam realizadas avaliações mais detalhadas do movimento espermático correlacionado com a capacidade fertilizante (LIU *et al.*, 1991; COX *et al.*, 2006). A velocidade curvilinear está relacionada a melhores índices de fertilização, levando em conta que os espermatozoides que têm uma trajetória com mais movimentos circulares, geralmente possuem maior facilidade para penetrar no oócito (CHIACCHIO *et al.*, 2017; LEITE *et al.*, 2018). Os parâmetros de coeficiente de linearidade, coeficiente de retilinearidade, oscilação média da trajetória espacial do espermatozoide, amplitude do movimento lateral da cabeça e batimento flagelar cruzado são fatores pouco utilizados para determinação de qualidade seminal em peixes e apresentam poucos valores de referência (NEUMANN *et al.*, 2017). A determinação de concentração espermática consiste na quantidade de espermatozoides por mL, sendo um dado bastante importante, pois permite o controle da relação espermatozóide:ovócito e oferece informações básicas que auxiliam no desenvolvimento de técnicas para reprodução artificial adequada para cada espécie (BOMBARDELLI *et al.*, 2006; SANCHES *et al.*, 2011).

Para os dados de qualidade seminal dos animais, os valores dos parâmetros seminais dos animais criados em sistema de recirculação e em tecnologia de bioflocos encontrados neste estudo estiveram dentro de níveis encontrados em trabalhos com lambaris (YASUI *et al.*, 2014; NASCIMENTO, 2015; ZIMBA, 2016; ZIMBA *et al.*, 2017; LEITE, 2019; LEITE *et al.*, 2020).

### 3.5 Conclusão

A espécie *Astyanax lacustris* se adaptou ao sistema de bioflocos e, para fins produtivos, os animais apresentaram bom desenvolvimento dentro dos dois sistemas de cultivo, onde não apresentaram diferença de ganhos zootécnicos. Para fins reprodutivos os sistemas não influenciaram na maturação gonadal, porém os animais da tecnologia de bioflocos obtiveram maior ganho de gordura corporal que pode ter causado desempenho

espermático levemente inferior quando comparado aos animais do sistema de recirculação em água clara. Em face aos dados obtidos pode-se concluir que os animais dos dois sistemas apresentaram valores adequados de crescimento e desenvolvimento reprodutivo, porém com leve melhoria da qualidade seminal para os machos mantidos no sistema RAS.

### **3.6 Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- ABAD, D.; RINCÓN, D.; POLEO, G. Índices de rendimiento corporal en morocoto *Piaractus brachypomus* cultivado en sistemas Biofloc. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 32, n. 2, p. 119-130, 2014.
- ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M.H.; KHATTAB, Y.A.E.; SHALABY, A.M.E. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 298, p. 267-274, 2010.
- AGOSTINHO, A. A.; BARBIERI, G.; VERANI, J. R. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis áspera* (Agassiz, 1829) (*Osteichthyes*, *Loricariidae*) no Rio Paranapanema, Porecatu, PR. **Ciência e Cultura (Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência)**, São Paulo, v. 42, p. 711-714, 1990.
- AGOSTINHO, C. A.; MOLINARI, S. L.; AGOSTINHO, A. A.; VERANI, J. R. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (L) (*Osteichthyes*-*Characidae*) do rio Ivaí, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 44, p. 31-16, 1984.
- AMMAN, R. P.; KATZ, D. F.; Reflection on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, Schaumburg, v. 25, n. 3, p. 317-325, 2004.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- AVNIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 176, p. 227-235, 1999. Doi: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X.
- AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 264, p. 140-147, 2007. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.11.025.
- AVNIMELECH, Y. Produção de tilápia com uso de tecnologia de bioflocos (BFT). **Panorama da Aquicultura**. 2014. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/producao-de-tilapia-com-bioflocos/> . Acesso em: 26 ago. 2021.
- BARRERO, M. Proximate composition and flesh quality of red bellied pacu, *Piaractus brachypomus*, cultured in two different closed systems. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 30, n. 3, 2014.
- BEM, J.C.; FONTANETTI, C.S.; SENHORINI, J.A.; PARISE-MALTEMPI, P.P. Effectiveness of estradiol valerate on sex reversion in *Astyanax altiparanae* (*Characiformes*, *Characidae*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, p. 283-290, 2012.

BOMBARDELI, R. A.; MEURER, F.; SYPERRECK, M. A. Metabolismo proteico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, Umuarama, v. 7, n. 1, p. 69-79, 2003.

BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 1251-1257, 2006.

BOOTH, M. A.; MOSES, M. D.; ALLAN, G. L. Utilization of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 376-379, n. 1- 4, p. 151-161, 2013.

BRANCO, J. O.; LUNARDON, M. J.; AVILA, M. G.; MIGUEZ, C. F. Interação entre fator de condição e índice gonadosomático como indicadores do período de desova em *Callinectes danae* SMITH (CRUSTACEA, PORTUNIDAE) da lagoa da conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Viçosa, MG, v. 9, p. 175-180, 1992.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M., SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. **Marine and Coastal Fisheries**, Chichester, 2011 DOI: 10.1080/19425120.2011.555724.

CARDOSO A. R.; TAVARES, R. A.; POUHEY, J. L. O. F.; PIEDRAS, S. R. N. Crescimento alométrico em período pré-reprodutivo da viola *Loricariichthys anus* (Loricaridae) na Lagoa Mangueira, RS. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 3, p. 298-300, 2013.

CARNEIRO-LEITE, L. **Toxicidade e criopreservação do sêmen de *Astyanax altiparanae* utilizando dimetil sulfoxido e metil glicol como crioprotetores**. 2019. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciêncial e Tecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2019.

CARNEIRO-LEITE, L.; BASHIYO-SILVA, C.; OLIVEIRA, Y. A.; BORGES, L. P.; SANCHEZ, M. P.; DA SILVA, L. G.; LOBATO, S. I. R.; RODRIGUES-LISONI, F. C.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Seminal characteristics and sensitivity of *Astyanax lacustris* (Characiformes:Characidae) sperm to cryoprotective solutions based on dimethylsulfoxide and methylglycol. **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 18, n. 3, 2020. DOI:<https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0039>.

CHIAICCHIO, I. M. D.; ALMEIDA, I. L. G.; LEAL, M. C.; VIVEIROS, A. T. M. Sperm quality and its freezing ability throughout the spawning season in *Prochilodus lineatus* and *Brycon orbignyanus*. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 90, p. 284-288, 2017.

CONSELHO REGIONAL DE BIOMEDICINA 1ª REGIÃO (CRBM). **Resolução CFBm nº 78, de 29 de abril de 2002**. Disponível em: <https://crbm1.gov.br/analises-bromatologicas/> . Acesso em: 16 set. 2021.

- COSSON, J.; GROISON, A. L.; SUQUET, M.; FAUVEL, C.; DREANNO, C.; BILLARD, R. Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers. **Reproduction**, Bristol, v. 3, p. 277-294, 2008.
- COSTA, A. P. R.; ANDRADE, D. R. D.; VIDAL JUNIOR, M. V.; SOUZA, G. Indicadores quantitativos da biologia reprodutiva de fêmeas de piau-vermelho no Rio Paraíba do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, p. 789-795, 2005.
- COSTA, A. P. R.; DE ANDRADE, D. R.; VIDAL JUNIOR, M. V.; SOUZA, G. Indicadores quantitativos da biologia reprodutiva de fêmeas de piau-vermelho no Rio Paraíba do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.40, n.8, p.789-795, 2005
- COTAN J. L. V.; LANNA, E. A. T.; BOMFIM, M. A. D.; DONZELE, J. L.; RIBEIRO, F. B.; SERAFINI, F. A. Níveis de energia digestível e proteína bruta em ração para alevinos de lambari tambuí. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 634-640, 2006.
- CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; MARTINO, R. C. Retenção de proteína e energia em juvenis de “Black Bass” *Micropterus Salmoides*. **Scientia Agrícola**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 609-616, 2000.
- DANTAS, N. S. M.*et al.* Larvicultura do pirarucu em sistema de bioflocos. 2018.
- DONELSON, J. M.; MUNDAY, P. L.; MCCORMICK, M. I.; PANKHURST, N. W.; PANKHURST, P. M. Effects of elevated water temperature and food availability on the reproductive performance of a coral reef fish. **Marine Ecology Progress Series**, Oldendorf, v. 401, 233-243, 2010. .DOI: <https://doi.org/10.3354/meps08366>.
- DOS SANTOS, J. A., SOARES, C. M.; BIALETZKI, A. Early ontogeny of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). **Aquaculture Research**, Chichester, 2020. DOI:10.1111/are.14746.
- EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. 2013 Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry, Biomass Now — Cultivation and Utilization. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/44409>. DOI: 10.5772/53902 . Acesso em: 29 ago. 2021.
- ESTAY, F., CERISOLA, H. & TÉLLEZ, V. Biología del Desarrollo y Reproducción Artificial en la Trucha Arcoiris. **Conicyt-Fondef.**, 28 p., 1994.
- EVANGELISTA, M. M. **Manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução induzida de *Astyanax altiparanae* durante o inverno**. 2015. 49 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca.) - Instituto de Pesca – APTA, 2015.
- FÓES, G. K., GAONA, C. A. P., POERSCH, L. H. Cultivo em bioflocos (BFT) é eficaz na produção intensiva de camarões. **Segmentos da aquicultura**, Rio Grande, Visão Agrícola nº II., p. 28-32, 2012.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA, R. B. C. Cultivo do lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 67, p. 15-19, 2001. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/cultivo-do-lambari/> . Acesso em: 24 ago. 2021.

FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**. [S. l.: s. n.], 2013. 375 p.

GALLEGO, V.; PÉREZ, L.; ASTURIANO, J. F.; YOSHIDA, M. Relationship between spermatozoa motility parameters, sperm/egg ratio, and fertilization and hatching rates in pufferfish (*Takifugu niphobles*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 416, p. 238-243, 2013.

GARCIA-HERREROS M.; APARICIO I.M.; BARON F.J.; GARCÍA-MARÍN L. J.; GIL M.C. Standardization of samples preparation, staining and sampling methods for automated sperm head morphometry analysis of boar spermatozoa. **International Journal of Andrology**, Chichester, v. 29, p. 553-563, 2006.

GIL, M. C., GARCÍA-HERREROS, M., BARÓN, F. J., APARICIO, I. M., SANTOS, A. J., GARCÍA-MARÍN, L. J. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. **Theriogenology**, Philadelphia, v.71, p. 254-263, 2009.

GUIMARÃES, J. L.; ADELL, E. A. A. **Estrutura e bioquímica do músculo**. Apostila do Laboratório de Carnes DTA-FEA-UNICAMP, 1995.

HAYASHI, C.; MEURER, F.; BOSCOLO, W. R.; LACERDA, C. H. F.; KAVATA, L. C. B. Frequência de arraçoamento para alevinos de lambari do rabo- amarelo (*Astyanax bimaculatus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 21-26, 2004.

HAYDEN, R.P.; FLANNIGAN, R.; SCHLEGEL, P.N. The Role of Lifestyle in Male Infertility: Diet, Physical Activity, and Body Habitus. **Curr Urol Rep**, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11934-018-0805-0>.

HIBIYA, A. G. **Water pollution and fish physiology**. Boca Raton: CRC Press. 359 p., 1995.

ISAAC-NAHUM, V. J.; VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia reprodutiva de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Teleostei, sciaenidae). Fator de condição como indicador do período de desova. **Boletim do instituto oceanográfico**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 63-69, 1983.

KOWALSKI, R. K.; CEJKO, B. I. Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 135, p. 94-108, 2019.

KRUMMENAUER, D.; LARA, G.; FÓES, G.; POERSH, L. Cultivo de camarões em sistema de bioflocos: realidades e perspectivas. **Revista ABCC**, Rio Grande, n. 2, p. 30-36, 2013.

LAL, B.; SINGH, T. P. Changes in tissue levels in freshwater catfish *Clarias batrachus* associated with the reproductive cycle. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 3, p. 191-201, 1987.

LAYEK, S. S.; MOHANTY, T. K.; JUMARESAN, A.; PARKS, J. E. Cryopreservation of bull semen: evolution from egg yolk based to soybean based extenders. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 172, p. 1–9, 2016.

LE CREN. Observations on the growth of perch (*Perca Fluviatilis L.*) over twenty-two years with special reference to the effects of temperature and changes in population density. **Journal of Animal Ecology**, Chichester, n. 2, v. 27, p. 287-344, 1958.

LEITE, J. S.; OLIVEIRA-ARAÚJO, M. S.; ALMEIDA-MONTEIRO, P. S.; CAMPELLO, C. C.; CAMPOS, A. C. N.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. Seasonal variation in seminal quality in Brazilian bocachico (Teleostei, Characiformes). **Revista Caatinga**, Mossoro, v. 31, n. 3, p. 759 – 766, 2018.

LÓPEZ, D. I.; LEAL, M. C.; VIVEIROS, A. T. M. Extender composition and osmolality affects post-thaw motility and velocities of piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes) sperm. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 31, n. s1, p. 114-118, 2015.

MASSAGO, H. da SILVA, B. C. Desempenho do lambari-do-rabo-amarelo alimentado com rações práticas contendo diferentes níveis de proteína bruta. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 33, n. 3, p. 67-71, 2020.

MATOS, D. L.; ARAÚJO, A. A.; TONIOLLI, R. R. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 4, p. 225-232, 2008.

MERÇON, J., CABRAL, D. S., TEIXEIRA, B. C., PEREIRA, T. M., BONA, A., VALADARES, C.; AGOSTINHO, S. G. N.; GOMES, L. C. Evidence of Reproductive Disturbance in *Astyanax Lacustris* (Teleostei: Characiformes) from the Doce River after the collapse of the fundão dam in Mariana. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 28, p. 66643–66655, 2021.

NASCIMENTO, N. F. **Desempenho zootécnico e caracterização da linhagem germinativa de peixes diploides e triploides de lambari (*Astyanax altiparanae*)**. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2015.

NASCIMENTO, N.F.; PEREIRA-SANTOS, M.; PIVA, L.H.; MANZINI, B.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J.A.; YASUI, G.S.; NAKAGHI, L.S.O. Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 471, p. 163–171, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of fish**. Washington: D.C.: National Academy of Science, 1993. 102 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient Requirements of Fish. Washington: National Academy, 2011. 376 p.

NAVARRO, R. D.; da SILVA, R. F.; FILHO, O. P. R.; CALADO, L. L.; REZENDE, F. P.; SILVA, C. S.; SANTOS, L. C. Comparação morfométrica e índices somáticos de machos e fêmeas de lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) em diferente sistema de cultivo. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 24, n. 2, p. 165-176, 2006.

NEUMANN, G.; BERNADES-JÚNIOR, J. J.; SANCHES, P. V.; PIANA, P. A.; BOMBARDELLI, R. A. Contribution of the CASA system, based on open source software, to the assessment of sperm characteristics: informetric and usage-based approaches. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, n. 7, p. 560-568, 2017.

NIKOLSKY G.V. **The ecology of fishes**. [S. l.]: Academic, 1963. 352 p.

NOMURA, H. Alimentação de três espécies do gênero *Astyanax* Baird & Girard, 1854 (Osteichthyes, Characidae) do rio Mogi-Guaçu, SP. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 35, p. 595 – 614, 1975.

PEÑA, A.; LINDE-FORSBERG, C. Effects of spermatozoal concentration and post-thaw dilution on survival after thawing of dog spermatozoa. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 54, n. 5, p. 703-708, 2000.

POLI, M. A.; SCHVEITZER, R.; NUNER, A. P. O. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: effect of suspended solids in the performance of larvae. **Aquacultural Engineering**, 2015.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. Hibridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (org). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2010. v.1, p. 589-601.

RURANGWA, E.; KIME, D. E.; OLLEVIER, F.; NASH, J. P. The measurement of sperm motility and factor affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, n. 1, p. 1-28, 2004.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2014. 678 p.

SALARO, A. L.; SARAIVA, A.; ZUANON, J. A. S.; BALBINO, E. M.; MORAES, S. S. S.; KASAI, R. Y. D. Níveis proteicos e energéticos em dietas para lambaris-dorado-vermelho, *Astyanax fasciatus*. In: **Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2008. v. 2, p. 1-376.

SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ADBUL-MEHDI, A.; BURGER, J. M.; ALMEIDA, R. V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D. L. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, Amsterdam, v. 36, p.184-191, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2006.10.004>.

SAMPAIO, A. L. A., & GOULART, E. ERIVELTO. Ciclídeos neotropicais: ecomorfologia trófica. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, 2011.

SANCHEZ, E. A.; BOMBARDELLI, R. A.; BAGGIO, D. M.; SYKORA, R. M.; XAVIER, A. M. M. Características seminais do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 3, p. 357-362, 2011.

SANTOS, R. A.; CAMPOS, E. C.; CAMARA, J. J. C.; MANDELLI JÚNIOR, J. (1991). Curvas de maturação gonadal e crescimento de fêmeas de tambuí, *Astyanax bimaculatus Linnaeus*, 1758 (Characiformes, Characidae), na represa de 24 Ibatinga, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v.18, p 1-11, 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM USER'S GUIDE - SAS. Cary: SAS Institute, 2002. 525p. (Version 9.00).

SAYER, M. D.; GIBSON R. N.; ATKINSON R. J. A. Growth, diet and condition of goldsinny on the west coast os Scotland. **Journal Fish Biology**, Chichester, v. 46, p. 317-340, 1995.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. São Paulo: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2017. 42 p.

SENAR (Serviço Nacional de Aprendizagem Rural). **Piscicultura: alimentação**. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. Brasília: Senar, 2019. 48 p. SBN: 978-85-7664-232-9.10.

SILVA, B. C.; MASSAGO, H. Relação do perfil proteico de dietas comerciais no desempenho de tilápia-do-nilo. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.32, n.3, p.73-77, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.22491/RAC.2019.v32n3>.

SGNAULIN, T.; MELLO, G. L.; THOMAS, M.C.; GARCIA, J. R. E.; OCA, G. A. R. M.; EMERENCIANO, M. G. C. Biofloc technology (BFT): An alternative aquaculture system for piracanjuba *Brycon orbignyanus*? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 485, p. 119–123, 2018.

STEVANATO, D. J., & OSTRENSKY, A. Ontogenetic development of tetra *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 16, 2018.

SÚAREZ, Y. R., SILVA, E. A., & VIANA, L. F. Reproductive biology of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) in the southern Pantanal floodplain, upper Paraguay River basin, Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, v. 7, p. 775–783, 2017. Doi:10.1007/s10641-017-0604-3.

TELETCHÉA, F.; GARDEUR, J.-N.; PSENICKA, M.; KASPAR, V.; LE DORÉ, Y.; LINHART, O.; FONTAINE, P. Effects of four factors on the quality of male reproductive cycle in pikeperch *Sander lucioperca*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 291, p. 217–223, 2009. Doi:10.1016/j.aquaculture.2009.03.029.

VALDEBENITO, I. I.; GALLEGOS, P. C.; EFFER, B. R. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. **Zygote**, Cambridge, v. 23, p. 177–197, 2013. Doi: 10.1017/S0967199413000506.

VAZZOLER A. E. A. de M.; CARACIOLO-MALTA, M. C.; AMADIO, S. A.; Aspectos biológicos de peixes amazônicos. XII. Indicadores quantitativos do período de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae) do baixo do Rio Negro, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 49, n. 1, p. 175-181, 1989.

VAZZOLER, A. E. A. de M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos. 20 ed. Maringá: EDUEM, 1996. 196 p.

VAZZOLER, A. E. A. de M.; CARACIOLO-MALTA, M. C.; AMADIO, S. A. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. XII. Indicadores quantitativos do período de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae) do baixo rio Negro. **Rev. Brasil. Biol.** Amazonas, v. 49, n. 1, p. 175-181, 1989b.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer Assisted semen analysers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 57, p. 149-179, 2002.

WASIELESKY, W. Sistema Bioflocos: custos com criação de camarões podem cair até 30%. **Sociedade Nacional de Agricultura**. 15 jul 2014. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/>.

YASUI, G. S.; SANTOS, M. P.; NAKAGHI, L. S. O.; SENHORINI, J. A.; ARIASRODRIGUEZ, L.; FUJIMOTO, T.; SHIMODA, E.; SILVA, L. A. Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 464-470, 2014.

YASUI, G.S.; SENHORINI, J.A.; SHIMODA, E.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L.S.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; SILVA, L.A. Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal**, [s. l.], v. 9, p. 464-470, 2014.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 5 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010. 944 p.

ZIMBA, R. D. **Desempenho produtivo e reprodutivo de Lambaris-de-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

ZIMBA, R. D.; SUSSEL, F. R.; OLIVEIRA, K. R. B.; SEGURA, J. G.; LIMA, C. G.; VIEGAS, E. M. M. Desempenho reprodutivo de lambaris alimentados com grãos secos de destilaria. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 20-34, 2017.