UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROSA DULCE ZIMBA

**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)**

Pirassununga

2016

ROSA DULCE ZIMBA

**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)**

(Versão corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia do programa de pós-graduação em Zootecnia

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas

Pirassununga

2016

Ficha catalográfica elaborado pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com os dados fornecidos
pelo (a) autor (a)

Z71d Zimba, Rosa Dulce 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) / Rosa
Dulce Zimba; orientadora Profa. Dra. Elisabete Maria
Macedo Viegas. -- Pirassununga, 2016.
87 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de
Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Grãos secos de destilaria com solúveis. 2.
Desempenho produtivo. 3. Desempenho reprodutivo. 4.
Viabilidade econômica. 5. Lambari -de-rabo-amarelo. I.
Viegas, Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo, orient.
II. Título.

DEDICO

Em especial aos meus filhos WANGA JONATHAN e RINDZELA GEÓRGIA, que apesar de estar longe nestes dois anos, eles sempre ocuparam o primeiro lugar no meu coração.

Ao meu esposo Renné, pelo amor, carinho, compreensão e cumplicidade.

A minha mãe, Georgina Júlio Chave que me ensinou a ser guerreira e mulher de fibra, ao meu Pai Arone Zimba, às minhas avós Rosita e Amélia, aos meus irmãos Elcídio, Apolinário, Dérsia, Arsénio e Mateus, que estiveram ao meu lado em todos os momentos me apoiando e não pouparam esforços em demonstrar o quão sou especial para eles, encorajaram-me a ir a busca dos meus sonhos e nunca desistir, pois segundo eles desistir é para os fracos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença constante em minha vida e por iluminar meus caminhos e decisões.

À Prof^ª. Dr^ª. Elisabete Maria Macedo Viegas pela orientação, valiosos ensinamentos, amizade e incentivo na realização deste trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique (MCT/Mz) pela concessão de bolsa de estudos.

À Universidade Eduardo Mondlane pelo auxílio na tramitação de dados necessários para a obtenção da bolsa e encargo da viagem ao Brasil.

Ao Dr. Fábio Sussel pelo auxílio na montagem e na condução do experimento, pela amizade e engajamento para a concretização desta pesquisa. E á sua esposa Synthia pela amizade e companheirismo durante o experimento.

À Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) - Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga, por disponibilizar a infraestrutura e animais necessários para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Augusto Senhorini por doar parte dos animais experimentais e ao Dr. George Shigueki Yasui por disponibilizar infraestrutura, equipamentos e reagentes para a realização da análise do sêmen.

À Prof. Dr. César Gonçalves pelo auxílio na análise estatística dos dados.

Ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino por disponibilizar a extrusora usada para confecção das dietas experimentais.

Aos amigos e colegas Kátia, Júlio Guerra, Adja, Sheila, Atanásio, Júlio Come, Rabia,

Genoveva, Núbia, Nathiele, Maria, Joana, Beatriz, Gamaliel, Rogério, Oyebola, Laurinda e Lampeão pelo companheirismo, pelos momentos de alegria e descontração, pela rica troca de experiências e pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos técnicos do laboratório Apolinário e Daflin pelos ensinamentos no uso do equipamento no laboratório de Aquacultura.

Nivaldo Nascimento pela ajuda na avaliação do sêmen.

Ao Técnico Ricardo do Laboratório de Ciência e Ambiente da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pelo auxílio na análise de histologia.

Aos funcionários da APTA, - Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga, Aparecida, Claudio e Jair Mazzafero pelos ensinamentos e por sempre estarem dispostos a ajudar no que fosse necessário.

À minha família que sempre me apoiou nas minhas escolhas e me motivou a buscar e alcançar os meus objetivos.

A todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, vai o meu OBRIGADOOOOOO!!!!!!

“Tudo é considerado impossível até acontecer. ”

Nelson Mandela

RESUMO

ZIMBA, R. D. **Desempenho produtivo e reprodutivo do lambari (*Astyanax Altiparanae*) alimentados com dietas contendo grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS)**. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) são uma fonte alternativa protéica e energética, de baixo custo se comparado com a farinha de peixe e o farelo de soja. Neste estudo avaliou-se a influência dos diferentes níveis de DDGS no desempenho produtivo e reprodutivo de lambari-de-rabo amarelo, bem como analisou-se a viabilidade econômica deste produto. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto de 4 tratamentos (níveis de DDGS) e 4 repetições. Foram elaboradas dietas contendo 0%, 10%, 20% e 30%, de DDGS em substituição parcial e total do farelo de soja e quirera de arroz. Um total de 2400 alevinos de lambari foram estocados em 16 tanques de 500L, contendo biofiltro e um sistema individual de recirculação de água, à densidade de 0,3 peixes/ L. Os peixes foram alimentados 4 vezes ao dia no primeiro mês e 2 vezes nos meses subsequentes durante 150 dias, à taxa diária do arraçoamento de 5% de peso vivo. Mensalmente os peixes foram pesados e no final determinou-se os parâmetros produtivos tais como: ganho de peso, índice de conversão alimentar, taxa de sobrevivência, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência protéica, índice de crescimento instantâneo, taxa de ganho de peso, fator de condição corporal e composição química do corpo inteiro e do músculo. Após o período de alimentação foram determinados os seguintes parâmetros reprodutivos: índice gonadossomático, volume dos ovos, fertilidade inicial, fertilidade inicial relativa, taxa de fertilidade, índice de desova, fertilidade final, fertilidade final relativa, taxa de eclosão e sobrevivência, diâmetro dos ovos e do vitelo e comprimento das larvas. Foi feita a histologia das gônadas das fêmeas e dos machos e avaliação do sêmen. Também se analisou a viabilidade do uso do DDGS. Os dados foram submetidos à análise de variância ($\alpha = 0,05$), à regressão e teste de tendência, e para a comparação das médias de viabilidade econômica utilizou-se o teste Tukey por meio do programa SAS. A adição de DDGS não afetou os parâmetros produtivos ($P > 0,05$), exceto para a matéria mineral do músculo ($P < 0,05$). Ocorreram diferenças ($P < 0,05$) para fertilidade inicial, peso, comprimento total e padrão dos machos. Histologicamente não se

evidenciou diferenças entre as estruturas morfológicas dos ovários, nos testículos dos peixes alimentados com dieta de 30% de DDGS apresentaram células espermáticas abundantes, portanto o desenvolvimento gonadal não foi influenciado negativamente pelo DDGS. Economicamente as dietas contendo DDGS (10, 20 e 30%) foram respectivamente 2; 7 e 11% menos onerosas do que a dieta com farelo de soja e quirera de arroz. As médias do custo do ganho não diferiram ($P > 0,05$) entre si, indicando que se pode substituir o farelo de soja e quirera de arroz com o DDGS sem grandes prejuízos no desempenho e a baixo custo de alimentação.

Palavras-chave: Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS). Lambari. Desempenho.

ABSTRACT

ZIMBA, R. D. **Productive and reproductive performance of lambari (*Astyanax altiparanae*) fed diets containing distillers dried grains with solubles (DDGS)**. 2016. 87 f. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

Distillers dried grains with solubles (DDGS) is a protein and energy source alternative, is used to formulate diets to feed fishes in replacement of fish meal and soya, and the cost is low. This research was carried out to investigate the influence of dietary inclusion of DDGS levels on growth and reproduction performance and evaluate its economical value of lambari. The experimental delineament were four isonitrogenous diets were formulated that contain 0%, 10%, 20%, and 30% of DDGS in substitution of soja meal and broken rice. A total of 2400 lambari were stored in 16 tanks 500L, provided with a biofilter and a single system of water recirculation, density were 0,3 fish / L. During 150 days the groups of fish were fed with experimental diets until visual satiety four times per day for the first month and twice in the remaining months, the daily rate of feeding were 5% of body weight. Each month the fish were weighed for determination of production parameters such as: weight gain, feed conversion rate, survival rate, specific growth rate, protein efficiency ratio, instantaneous growth rate, weight gain rate, condition factor physical and chemical composition of the whole body and muscle. After the feeding period terminated reproductive parameters such as: gonadosomatic index, egg volume, initial fertility, relative initial fertility, fertility rate, spawning rate, final fertility, final relative fertility, hatching and survival rate, diameter of eggs and length of the larvae. It was made the histology of the gonads (females and males) and semen evaluation. Also analyzed the economic viability of using DDGS in the diets. The data were subjected to ANOVA, regression and trend test, economical value analysed by Turkey test ($\alpha = 0,05$). Addition of DDGS did not affect the productive parameters ($P > 0,05$) except for the mineral of muscle ($P < 0,05$). There were differences ($P < 0,05$) in initial fertility (FI), weight, total and pattern length of males. Histologically no detectable morphological differences between the structures of the ovaries, but testes of fish fed with diet of 30% DDGS showed abundant sperm cells, therefore gonadal development was not negatively influenced by the DDGS. Economically diets containing DDGS

(10, 20 and 30%) were respectively 2; 7:11% cheaper than the diet with soy meal and broken rice. The cost gain was no significant ($P > 0.05$). The result from this research shows that DDGS can replace soybean meal and broken rice without major losses in performance and low cost supply.

Keywords: Distillers dried grain with solubles (DDGS). Lambhari. Performance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma do processo de fabricação do DDGS pelo método de moagem seca...	24
Figura 2 - Variação da matéria mineral (MM%) no músculo de lambaris-de rabo-amarelo em função das diferentes concentrações de DDGS.....	53
Figura 3 - Variação da fertilidade inicial de fêmeas dos lambaris-de rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis)	57
Figura 4 - Frequência relativa (%) dos diâmetros dos ovos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	59
Figura 5 - Frequência relativa (%) dos diâmetros dos vitelos dos ovos do lambari-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	59
Figura 6 - Frequência relativa (%) do comprimento total das larvas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	60
Figura 7- Frequência relativa (%) do comprimento padrão das larvas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	61
Figura 8 – Variação do peso dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	64
Figura 9 – Variação do comprimento total dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	64

Figura 10 - Variação do comprimento padrão dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis)..... 65

Figura 11 – Cortes histológicos dos ovários de lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis)..... 70

Figura 12 – Cortes histológicos dos testículos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis)..... 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Estoques de produção de milho no Mundo e no Brasil	27
Tabela 2 - Composição bromatológica dos ingredientes usados para formulação das dietas (Matéria natural).	35
Tabela 3- Formulação e composição química das dietas experimentais (Matéria natural).	36
Tabela 4 - Preços corrigidos dos ingredientes usados na formulação das dietas dos lambaris-de-rabo-amarelo contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).46	
Tabela 5 - Índices produtivos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	49
Tabela 6 - Composição química (Matéria natural) dos peixes inteiros e dos músculos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentado com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	51
Tabela 7- Índices reprodutivos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados de dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	56
Tabela 8 – Comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), índice de condição corporal (Kp) e índice gonadosossomático (IGS) de machos e fêmeas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	63
Tabela 9 - Concentração espermática (CE esp/mL), viabilidade espermática (VE), motilidade dos espermatozoides (MOT%), velocidade curvilinear (VCL $\mu\text{m/s}$), velocidade média de deslocamento (VMD $\mu\text{m/s}$) e Velocidade espermática em linha reta (VLR $\mu\text{m/s}$) do sêmen dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).	67

Tabela 10 - Custo relativo das dietas (R\$ Kg ⁻¹) e custo do ganho (R\$ Kg ⁻¹) dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).....	73
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Objetivos.....	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	Fontes alternativas protéicas.....	20
2.2	Nutrição, crescimento e reprodução dos peixes	22
2.3	Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS).....	24
2.4	Produção do milho, de etanol e do DDGS	26
2.5	Utilização do DDGS para alimentação de animais aquáticos	28
2.6	Lambari-de-rabo amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>)	31
3	METODOLOGIA	34
3.1	Local de realização da pesquisa	34
3.2	Análises químicas	34
3.3	Delineamento Experimental e Dietas Experimentais	35
3.4	Peixes e condições experimentais	37
3.5	Biometrias e determinação de parâmetros produtivos.....	37
3.6	Seleção dos reprodutores e determinação de parâmetros reprodutivos.....	39
3.7	Análise de viabilidade econômica	44
3.8	Avaliação estatística	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1	Composição das dietas e qualidade da água.....	48
4.2	Desempenho Produtivo	48
4.3	Seleção e resposta hormonal	53
4.4	Desempenho reprodutivo.....	54
4.5	Análise de viabilidade econômica	73
5	CONCLUSÕES.....	74
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
7	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

A aquacultura mundial cresce anualmente, em quantidade e em diversidade das espécies aquáticas produzidas. A piscicultura é uma das atividades dentro da aquacultura que a nível mundial nos últimos anos aumentou consideravelmente, e a piscicultura de água doce é a que se mostra mais promissora, pois gera fonte vital de meios de subsistência, alimentos nutritivos e oportunidades econômicas (FAO, 2014).

A produção aquícola total aumentará passando de 158 milhões de toneladas da produção de 2012 para 172 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2014). Este aumento de produtividade é potencializado por fatores, tais como: crescimento populacional, aumento da renda, urbanização, forte expansão da produção de peixes e canais de distribuição mais eficientes (FAO, 2014), aproveitamento dos recursos hídricos, utilização de espécies piscícolas melhoradas geneticamente, uso de técnicas de manejo reprodutivo e sanitário eficientes (EL-SAYED, 1999). Associado a estes fatores, tem-se ainda a administração de rações balanceadas de boa qualidade (AYROZA, 2009), formuladas e fabricadas a partir de ingredientes produzidos de forma sustentável (NRC, 2011).

Porém, o uso destas rações para a alimentação dos peixes é equivalente a 60-80% do custo total de produção (CAMPOS et al., 2007; ROLA; HASAN, 2007). Entre 2005 a 2009 o índice de preços de farelo de soja, farinha de peixe, milho e trigo aumentou em 67, 55, 125 e 130% respectivamente, e o custo dos principais óleos usados na indústria de alimentação aquática aumentou até 250% (RANA; SIRIWARDENA; HASAN, 2009). A tendência destes índices de preços é muito volátil, tendo atingido quase 300% para as farinhas e óleos em 2010, e em 2015 estes índices caíram para 180 e 200% para óleos vegetais e farinhas respectivamente (FAO, 2015). Com esta oscilação dos preços nos mercados globais enfatiza-se a necessidade de reduzir a incorporação destes ingredientes em rações para peixes, o que direciona várias investigações em nutrição de animais aquáticos para a procura de outras fontes protéicas abundantes e rentáveis (MAGALHÃES, 2013), que permitam aos peixes expressar seu potencial genético de crescimento, dentro dos padrões de saúde (FERNANDES JÚNIOR et al., 2010).

Assim sendo, os grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) surgem como uma alternativa protéica interessante. DDGS é um co-produto resultante da fermentação e destilação do milho e de vários outros cereais (sorgo e cevada) para a produção do etanol (HERTRAMPF; PIEDADPASCUAL, 2000). Este produto contém baixo teor de aminoácidos tais como lisina, metionina e triptofano (CHENG; HARDY, 2004a) e razoável quantidade de fósforo (BARNES; BROWN; ROSENTRATER, 2012), não contém fatores anti-nutricionais encontrados em outras fontes protéicas como: o farelo de soja (inibidores de tripsina) ou o farelo de algodão (gossipol) (LIM; YILDIRIM-AKSOY; KLESIUS, 2009) e proporciona benefícios imunológicos aos peixes (LIM et al., 2009).

Vários estudos foram feitos tendo como base o uso do DDGS para alimentação de ruminantes, suínos e aves, mas poucas foram as pesquisas feitas em peixes. Schaeffer et al. (2010) relataram que, nesses poucos estudos em peixes, determinaram-se quantidades aproximadas de DDGS que poderiam ser incorporados, mas não se especificou o nível de DDGS que poderia promover o crescimento máximo ou examinar os limites de inclusão ideais dos DDGS para cada espécie e categoria dos peixes. O DDGS pode ser uma eficiente fonte de proteína principalmente para animais de hábito alimentar onívoro uma vez que as exigências por dietas com altos níveis protéicos não são tão acentuadas como para as espécies de hábito alimentar carnívoro (GATLIN III et al., 2007; HARDY, 2010; BOSCOLO et al., 2011).

Posto que, a cada dia cresce a busca de biocombustíveis à base de etanol no Brasil, aumenta-se também a necessidade de se produzir mais plantas alternativas de curto ciclo de produção tais como o milho para a produção do etanol para além da tradicional fonte que é a cana-de-açúcar. As usinas brasileiras ao associar a produção de etanol à base de cana e do milho, disponibilizará imensas quantidades de DDGS que poderiam ser usadas para a fabricação de dietas para a alimentação dos animais a baixo custo. Neste contexto, o presente estudo tem como finalidade conhecer a influência dos diferentes níveis de inclusão de DDGS no crescimento, na reprodução e a viabilidade econômica do uso do DDGS produzido no Brasil, para a produção de dietas para o lambari-de-rabo-amarelo.

O lambari-de-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) é uma espécie de peixe de água doce, onívora, nativa da América do Sul. A espécie distingue-se por apresentar um curto ciclo de

produção, boa aceitação de dietas processadas, alta taxa de reprodução e produção de alevinos sem indução hormonal (GÖNÇALVES et al., 2014). Esta espécie é bastante popular como petisco, como isca para a pesca esportiva e tem um potencial para ser comercializado em conserva ou como matéria-prima para a fabricação de farinha de peixe (PORTO-FORESTI et al., 2005). A pequena dimensão do lambari-de-rabo-amarelo permite a sua utilização como um modelo experimental para outras espécies de grande porte (GÖNÇALVES et al., 2014).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Conhecer a influência dos diferentes níveis de inclusão de DDGS no desempenho produtivo e reprodutivo do lambari-de-rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*).

1.1.2 Objetivos específicos:

Avaliar o desempenho produtivo dos lambaris-de-rabo amarelo alimentado com dietas contendo diferentes níveis de DDGS;

Identificar os melhores níveis de inclusão de DDGS e analisar a eficiência reprodutiva dos lambaris alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS;

Analisar e avaliar a viabilidade económica da substituição do farelo de soja com o DDGS em dietas para os lambaris-de-rabo-amarelo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fontes alternativas protéicas

Pesquisas recentes tem como foco a substituição de proteínas de origem animal por proteínas de origem vegetal nas dietas de diferentes espécies aquícolas. Numerosos estudos têm sido conduzidos para encontrar alternativas razoáveis com boa relação custo-benefício e compatibilidade protéica na alimentação dos peixes (AYADI et al., 2011; NRC, 2011).

No entanto, a formulação de rações de baixo custo bem-sucedidas, exige não só a utilização das combinações de ingredientes econômicos e uma completa compreensão dos requerimentos nutricionais do animal, incluem também a tolerância a fatores antinutricionais, interação entre os nutrientes, a palatabilidade, assim como o conhecimento da composição e disponibilidade dos nutrientes, variabilidade e limitações dos vários ingredientes (NRC, 2011). A quantidade e a qualidade dos nutrientes presentes em um ingrediente determinam a capacidade de fornecimento deste alimento que, por conseguinte, afeta os processos nutricionais e metabólicos do corpo, incluindo o crescimento, reprodução e manutenção da saúde (BARROWS; SEALEY, 2014).

As proteínas são constituídas de vários aminoácidos, que são estruturas orgânicas que compõem os organismos vivos e principais nutrientes em dietas para peixes, uma vez que apresentam importante papel estrutural (em todas as células do corpo) e metabólico (enzimas, hormônios, imunoglobulinas e lipoproteínas) (GATLIN III, 2010; NRC, 2011). A farinha de peixe é o alimento utilizado como referência em dietas para peixes, principalmente em função do adequado balanceamento de aminoácidos na sua proteína (HARDY; BARROWS, 2002; ZHOU et al., 2010), alta digestibilidade de energia, fonte de ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais (EL-SAYED et al., 1999), apresenta uma boa aceitação pelos animais, porém, em função do elevado custo resultante da baixa disponibilidade do produto no mercado, a farinha de peixe tem sido substituída por ingredientes protéicos de origem vegetal (ZHOU et al., 2010).

A proteína vegetal é relativamente fácil de ser obtida, é mais acessível comparando-se com as fontes protéicas de origem animal (AYADI et al., 2011). O uso de alimentos alternativos tais como: farelo de soja, protenose, farelo de canola, farinha de ossos, farinha de penas apresentam

limitações significativas (ASLAKSEN et al., 2007; NRC, 2011) e estes não podem ser usados individualmente em altos níveis de inclusão nas dietas da maioria das espécies de peixes (NRC, 2011). O aspecto negativo dos produtos de origem vegetal é a presença de fatores antinutricionais, toxinas (micotoxinas), baixo nível de proteínas e aminoácidos essenciais tais como lisina, metionina e arginina (PEREIRA; OLIVA-TELES, 2003).

Geralmente os peixes alimentados com dietas contendo baixo nível de farinha de peixe apresentam uma baixa performance que é explicada pelas deficiências nutricionais, diferenças na digestibilidade dos ingredientes, baixo consumo do alimento associado a alteração da palatibilidade. Portanto, na combinação de ingredientes derivados de plantas e outras fontes alternativas de alimentos para substituir a farinha de peixe é necessário a adição de suplementos como aminoácidos sintéticos, aromatizantes e enzimas (fitase) (NRC, 2011).

Comumente, o farelo de soja é um dos substitutos da farinha de peixe muito mais usado, porque contém elevado nível de proteína e ótimo perfil de aminoácidos. Todavia, as dificuldades no uso desta fonte protéica é relativamente a baixa digestibilidade de proteína e energia, oligossacarídeos não digeríveis, deficiências em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) e lisina (AYADI et al., 2011), deficiências de minerais e a presença de nutrientes anti-endógenos, tais como: fatores antinutricionais (inibidores da tripsina), fito-hemaglutinina e anti-vitaminas (EL-SAYED et al., 1999).

Contudo, a substituição total de farinha de peixe pelo farelo de soja é possível para algumas espécies de peixes carnívoros e onívoros, mas para eliminação dos fatores antinutricionais, a soja passa por etapas de pré-processamento por calor e fermentação (ARNDT et al., 1999). Nos últimos 10 anos o preço da soja a nível mundial aumentou drasticamente, abrindo novos horizontes para a busca de outras fontes alternativas menos onerosas. Assim, substituindo o farelo de soja por outras fontes de proteína vegetal menos onerosas seria benéfico para reduzir os custos de alimentação (ZHOU et al., 2010).

2.2 Nutrição, crescimento e reprodução dos peixes

A nutrição dos animais aquáticos é uma ciência relativamente nova (NRC, 2011). A produtividade e rentabilidade do cultivo de peixes dependem da obtenção de alimentos que satisfaçam os requerimentos em nutrientes essenciais e sejam aceitos em quantidades certas para assegurar um ótimo crescimento dos peixes (SANTOS, 2012).

De uma maneira geral, os peixes utilizam a energia da dieta para manutenção do metabolismo, locomoção, reprodução e transformação da proteína oferecida na ração em carne (crescimento em tecido muscular). A energia, não é um nutriente, porém é de grande importância na nutrição de peixes, pois muitas funções bioquímicas e fisiológicas dependem do suprimento e consumo de energia em quantidades satisfatórias. Salienta-se, ainda que, apesar da importância atribuída à energia, a concentração protéica ideal é também um fator determinante para o sucesso da atividade piscícola, já que os peixes exigem uma dieta equilibrada em aminoácidos indispensáveis, que devem estar presentes em adequadas proporções, obtidos pela combinação de ingredientes ou suplementados na forma sintética (PEZZATO et al., 2004).

Os efeitos das diferentes fontes proteicas de origem vegetal no desempenho produtivo e na composição dos filés dos peixes são reportados em várias pesquisas, foram obtidos efeitos significativos em 40% desses trabalhos. Ressalta-se ainda que, a cor do filé possa ser a mais afetada pela fonte protéica, a textura e o aroma dos filés também são influenciados particularmente quando o nível de substituição da farinha do peixe é muito elevado. Em contrapartida muitos outros estudos reportam que não existem diferenças na aceitabilidade dos filés pelo consumidor quando o nível de inclusão da proteína vegetal na dieta for de 30-60% (GATLIN III et al., 2007).

Nas diversas fases de vida ou categorias dos peixes a nutrição dos reprodutores é um dos domínios menos estudados por causa das dificuldades para a concretização dos experimentos. O fornecimento e utilização dos nutrientes começam com a dieta dos reprodutores, pois influenciam o desenvolvimento gonadal, a qualidade e quantidade dos espermatozóides e dos ovos depositados (NAVARRO et al., 2009), podendo melhorar o desenvolvimento produtivo das espécies cultivadas (COWARO; BROMAGE, 2000; EL-SAYED; MANSOUR; EZZAT, 2003). A aquicultura economicamente viável depende em grande parte de um fornecimento confiável de

ovos férteis e de alevinos. Ambos podem ser produzidos num banco de reprodutores mantidos em condição de regimes nutricionais adequados (ALVAREZ-LAJONCHERE, 2006).

De acordo com Afzal Khan, Jafri e Chadha (2005), a nutrição influencia a fertilização, mas o mecanismo deste efeito ainda permanece obscuro. Os nutrientes sequestrados pelo oócito durante o seu desenvolvimento e maturação são um dos fatores chaves que afetam a qualidade do ovo (BROMAGE et al., 1992). A transferência de nutrientes do organismo dos reprodutores para os gametas, influencia em grande parte a qualidade das gônadas, a fecundidade, a qualidade dos ovos, o desenvolvimento embrionário, a porcentagem de fertilização, a eclosão e a sobrevivência de larvas (FERNANDEZ-PALÁCIO et al., 1998). Todavia, descuidos no manejo dos reprodutores que prejudiquem a produção e a qualidade das pós-larvas e alevinos amplificam em muito o custo de produção, assim como na qualidade e sobrevivência dos alevinos (PEZZATO et al., 2004).

As proteínas e lipídios são os principais componentes da gema do ovo, os quais desempenham um papel central na reprodução. Além disso, proteínas atuam como uma fonte de aminoácidos e de reservatório de materiais utilizados durante as atividades biossintéticas essenciais para estágios iniciais da embriogênese (AFZAL KHAN; JAFRI; CHADHA, 2005).

Trabalhos relacionados a avaliação do efeito da inclusão de diferentes fontes protéicas no desempenho reprodutivo são escassos, porém destaca-se o trabalho de Pelissero et al. (1991), que examinaram o efeito estrogênico da dieta de farelo de soja no processo de vitelogenese no esturjão da Sibéria (*Acipenser baerii*), e relataram que níveis de vitelogenina aumentaram consideravelmente nos peixes alimentados com dietas contendo 30g/100g de farelo de soja quando comparado aos peixes alimentados com dieta comercial e dieta com caseína. O efeito a longo prazo da inclusão do farelo de algodão no desempenho produtivo e reprodutivo da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), mostrou que a suplementação de 58,8g/100g de farelo de algodão, ou a substituição completa da farinha de peixe não teve efeito nocivo no crescimento dos peixes, contudo o desempenho reprodutivo dos machos e das fêmeas foi prejudicado pela inclusão de altas concentrações (acima de 29,4g/100g) de farelo de algodão (LEE et al., 2006). A influência da dieta sobre o desempenho reprodutivo dos peixes permite a escolha de ingredientes em níveis mais adequados aos processos metabólicos do animal (NAVARRO et al., 2010). Para

isso, mais estudos são necessários para a averiguação dos níveis de inclusão ideais de produtos alternativos para a alimentação dos peixes em crescimento, assim como, em reprodução.

2.3 Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS)

A Associação Oficial Americana de Controle de Alimentos (AAFCO, 2011) define o DDGS como sendo o produto obtido após a remoção do álcool etílico por processo de destilação, a partir da fermentação de grãos (milho) ou mistura de grãos (milho, sorgo, trigo e cevada) usando leveduras, seguido de secagem dos sólidos por métodos empregados na indústria de destilação de grãos.

Figura 1. Fluxograma do processo de fabricação do DDGS pelo método de moagem seca.

Fonte: Adaptado de BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - BNDES. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável.** Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

No processo de fabricação o DDGS perde grande parte dos carboidratos durante a fermentação, fato que o torna num produto mais concentrado em teores de proteína e mais baixas quantidades de amido do que o milho (AYADI et al., 2011). Estudos sobre a variabilidade de preços dos ingredientes usados na formulação da ração a nível mundial, tem induzido os nutricionistas de animais a buscarem novos ingredientes alternativos de baixo custo com objetivo de minimizar o custo de produção, e o DDGS é uma alternativa, pois a perspectiva é de ser produzido em grandes quantidades pela indústria de combustíveis (etanol), é economicamente atraente, pode custar 75 a 80% a menos do valor de milho e contém três vezes mais nutrientes do que o milho (U.S. GRAINS COUNCIL, 2012).

2.3.1 Composição do DDGS

A composição química do DDGS varia de acordo com a fonte do grão, dos métodos de fermentação alcoólica, das diferenças do tempo e temperatura de secagem do DDGS (SPIEHS; WHITNEY; SHURSON, 2002; LIU, 2009; LIM; LI; KLESIUS, 2011), consiste basicamente em 27-33,4% de proteína bruta (PB); 3,5-12,8% de extrato etéreo (EE); 5,4-10,6% de fibra bruta (FB); 2,8-9,8% de cinzas (CZ); 0,5-1,1% de lisina e 0,5-0,8% de metionina (AYADI et al., 2011); 31,7% de lignina; 12,1% de carboidratos não fibrosos; 90,6% de nutrientes digestíveis totais; 0,03% de cálcio; 0,95 % de fósforo; 0,38 de magnésio; 1,28% de potássio; 0,12 % de sódio (ETHANOL GREEN FIELD, 2013) e, 1,1-7,9% de amido (SHURSON, 2012).

A maior parte da energia de DDGS é derivada de seu alto teor de gordura bruta, o amido residual, a fibra e a proteína contribuem em pequena parte na quantidade total dessa energia. Essa gordura é constituída principalmente de 55,7% de ácido linoleico e 7,8% de ácido linolênico (SHURSON, 2012). Hertrampf e Piedade-Pascual (2000) reportaram que, a concentração de vitaminas incluindo a riboflavina, a niacina, o ácido pantotênico, o ácido fólico e a colina, são três vezes maiores no DDGS do que no milho. Uma das vantagens distintas de DDGS em comparação com outros ingredientes à base de plantas é que este não contém fatores antinutricionais, tais como aquelas encontradas na soja (inibidor de tripsina), no farelo de colza (glucosinolatos e ácido

erúxico) e no farelo de algodão (gossipol), e adicionalmente o DDGS contém baixos níveis de fitatos, fator que torna o fósforo mais disponível para a utilização pelo peixe (SHURSON, 2012).

2.4 Produção do milho, de etanol e do DDGS

O milho é o grão mais produzido no mundo e a produção mundial deste grão está projetada em 991 milhões de toneladas, sendo que a demanda é de apenas 970 milhões de toneladas. O excedente será somado aos já elevados estoques globais e resultará no maior nível de reservas do cereal correspondente a 191 milhões de toneladas nos últimos 15 anos (RABOBANK, 2015). Cerca de 66,5% da produção mundial de milho concentra-se nos Estados Unidos da América (E.U.A.), na China e no Brasil. Em especial os E.U.A. usam a maior parte da produção do milho para a fabricação de etanol anidro.

A projeção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para safra brasileira 2021/2022 é que a produção de milho deverá situar-se em 70,4 milhões de toneladas e o consumo em 58,8 milhões de toneladas. Esses resultados indicam que para atender esse consumo o País deverá ter um excedente na ordem de 11,4 milhões de toneladas para as exportações e formação de estoques. As previsões indicam que nos próximos anos cerca de 84,0 % da produção de milho será destinada ao mercado interno, para o atendimento do consumo humano e fabricação de rações para animais, em especial suínos e aves. Historicamente, a maioria dos grãos destilados são produzidos nos E.U.A., o extenso crescimento da indústria de combustível a base de etanol levou à produção de mais de 36 milhões de toneladas de grãos de destilaria disponíveis para utilização em alimentos para animais (RENEWABLE FUELS ASSOCIATION, 2011).

A demanda pela produção de combustíveis limpos, conhecidos como biocombustíveis, tem levado os países industrializados a desenvolverem suas próprias tecnologias. Dentre eles, a produção mundial de etanol tem apresentado aumento crescente (BRITO, 2008). Desde a década de setenta o Brasil já dispunha de tecnologia para o uso de álcool como combustível, a cana de açúcar é a matéria-prima mais usada para a produção de etanol (PENZ JÚNIOR; GIANFELICE, 2008; MILANEZ et al., 2014). Como segundo maior produtor de etanol do mundo, o Brasil produz 23 bilhões de litros anuais de etanol a base de cana-de-açúcar (CENÁRIO, 2016). Todavia, com a demanda mundial por biocombustíveis nos últimos tempos, o setor privado

brasileiro vem valorizando o milho como nova biomassa para obtenção de biocombustível (MILANEZ et al., 2014).

As instalações das usinas de produção de álcool a base de cana-de-açúcar, ficam ociosas na entressafra desta cultura (período entre 90/120 dias por ano), ou seja, estas usinas moem a cana-de-açúcar durante a safra que dura 8 meses. No entanto, com a elevação do estoque de milho (Tabela 1), este cenário poderá ser alterado, ao se otimizar a produção do biocombustível, transformando-se as usinas tradicionais em usinas capazes de processar a cana-de-açúcar e milho, tais usinas são designadas “*flex*” (BUOSI; DIAN, 2014; MILANEZ et al., 2014). Além disso, o consumo dos biocombustíveis é impulsionado pelo aumento da demanda de biocombustível que por sua vez é influenciado pelo crescimento da frota brasileira de veículos do tipo bicombustível “*flex*” (BUOSI; DIAN, 2014). De acordo com Brito (2008), o processamento de uma tonelada de milho resulta em média 401 litros de etanol, 323 kg de CO₂ e 323 kg de resíduos secos de destilaria com solúveis (DDGS), portanto para atender a demanda de produção de etanol para 2022 (136 bilhões de litros), serão produzidos aproximadamente 70 milhões de toneladas de DDGS que poderiam ser usadas nas fábricas das rações.

Tabela 1 Estoques de produção de milho no Mundo e no Brasil

Mundo					
Safra	Produção	Importação	Exportação	Consumo (Ração)	Estoque de consumo (%)
2010/2011	835.919	92.311	91.259	503.474	15,2
2011/2012	889.327	99.900	116.980	503.388	15,5
2012/2013	868.807	99.480	95.188	518.793	15,9
2013/2014	984.448	117.394	124.967	573.486	18,4
2014/2015	980.963	114.872	115.222	593.846	19,5
Brasil					
Safra	Produção	Importação	Exportação	Consumo (total)	Estoque final
2008/2009	51.003,80	1.181,60	7.333,90	45.414,10	7.112,8
2009/2010	56.018,10	391,9	10.966,10	46.967,60	5.589,1
2010/2011	57.406,90	764,4	9.311,90	48.485,50	5.963,0
2011/2012	72.979,50	774	22.313,70	51.888,60	5.514,2
2012/2013	81.505,70	911,4	26.174,10	53.159,50	8.597,8
2013/2014	78.554,00	500	21.000,00	53.817,90	12.833,9

Fonte: Adaptado de COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília; 2015.

2.5 Utilização do DDGS para alimentação de animais aquáticos

A maioria das pesquisas sobre o uso de resíduo de destilaria na alimentação animal é americana e mostra uma grande variação nas concentrações de nutrientes. Apesar do teor de proteína bruta ser relativamente elevado no DDGS, as concentrações dos aminoácidos: lisina, metionina, treonina, triptofano são relativamente baixas em relação às exigências de aminoácidos para peixe. A lisina é um dos aminoácidos mais variável, esta variação está associada a diferentes fontes de milho e do grau de aquecimento usados na produção de DDGS. Assim sendo, nas dietas para peixes que tem como exigências nutricionais elevados níveis de proteína, para a inclusão de grandes quantidades de DDGS na ração é recomendável a suplementação com aminoácidos cristalinos (CHENG; HARDY 2004a).

O teor de fósforo no DDGS (0,75 -0,95%) é superior aos outros ingredientes a base de plantas e a maior parte do fósforo é liberado do fitato durante a fermentação de milho na produção de etanol, tornando-se altamente digerível para espécies monogástricas (STEIN; SHURSON 2009). No entanto, a digestibilidade e a disponibilidade do fósforo não foram determinadas em peixes. Macro minerais (cálcio, cloro e potássio) e os micronutrientes (zinco, ferro, manganês e cobre) estão em menor concentração no DDGS do que na farinha de peixe, assim sendo existe a necessidade de se adicionar esses nutrientes nas rações (HERTRAMPF; PIEDADE-PASCUAL 2000).

A digestibilidade da fibra do DDGS em peixes não é bem conhecida, mas estudos conduzidos em outras espécies monogástricas indicam que a digestibilidade da fibra do DDGS pode ser significativa, porém é variável. Peixes com facilidade em utilizar dietas contendo altos níveis de fibra, poderão ser alimentados com dietas contendo alta inclusão de DDGS comparado a outras espécies que apresentam baixa capacidade fermentativa no intestino (SHURSON, 2012). Todavia a extrusão de dietas contendo elevada inclusão do DDGS é problemática devido ao alto nível de fibra do DDGS.

Na tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) o melhor desempenho foi conseguido alimentando os alevinos com uma dieta de 40% de proteína bruta, contendo 35% de DDGS e conclui-se que pode ser incluso até 29% do DDGS em dietas com 32 a 36% de proteína bruta (WU et al., 1994). Em contrapartida as dietas contendo 82% de DDGS e suplementadas de lisina e triptofano

proporcionam um desempenho semelhante ao de uma dieta rica em proteínas (32%) (WU; ROSATI; BROWN, 1997). Em tilápias alimentadas com dietas peletizadas contendo DDGS, a taxa de crescimento foi superior à dos peixes alimentados com dietas não peletizadas (TIDWELL et al., 2000). Concomitantemente, Lim et al. (2007) verificaram que, para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) poderiam ser adicionadas 20% de DDGS nas dietas para a substituição total ou parcial do farelo de soja e milho sem afetar o desempenho, composição corporal, hematologia e resposta imunológica. Em outros estudos em que foi substituído o farelo de soja por DDGS em dietas para tilápias, as melhores taxas de crescimento e conversão alimentar dos alevinos foram obtidas em peixes alimentados com dietas contendo 0, 25 ou 50% de DDGS suplementadas de fitase (ABOSTATE; TAHOUN; HAMMOUDA, 2009). Por outro lado, Schaeffer et al. (2009), não observaram diferenças significativas nas médias da digestibilidade aparente de dietas contendo 27,5% de DDGS embora a melhor conversão alimentar tenha sido observada em alevinos alimentados com dietas contendo 17,5% de DDGS.

Trabalhos feitos por Cheng e Hardy (2004a) demonstraram que, o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes de DDGS para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi superior a 90% para todos os aminoácidos essenciais, exceto para treonina. Outra limitação do uso de DDGS para a truta arco-íris é a baixa concentração de lisina e metionina, assim sendo a suplementação com lisina e metionina sintética torna-se necessária para agilizar o crescimento. Quando se inclui até 15% de DDGS na ração, não há necessidade de adicionar a lisina e metionina sintética, porém ao ser substituído 50 a 75% de farinha de peixe pelo DDGS deve-se adicionar esses aminoácidos sintéticos na dieta para que se possa alcançar uma taxa de crescimento satisfatória.

Cheng e Hardy (2004b) reportaram que, o uso de fitase (até 1200 FT/kg dieta) para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) melhorou a digestibilidade aparente dos nutrientes em dietas contendo 30% de DDGS e as dietas com 15% de DDGS suplementadas de lisina, metionina e fitase aumentaram a disponibilidade de minerais. Para dietas contendo farinha de glúten de milho e DDGS de milho, a substituição da farinha de peixe depende da razão entre o DDGS e o glúten de milho (STONE et al., 2005). Em dietas práticas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pode ser substituído 25% de farinha de peixe por 18% de co-produtos de milho sem causar efeitos adversos no crescimento (SHURSON, 2012).

Muitos outros estudos foram feitos por Tidwell (1990), Webster et al. (1993), Robinson e Lee (2008) e Zhou et al. (2010) usando o bagre americano (*Ictalurus punctatus*), os quais determinaram que, a inclusão de 30% de DDGS poderia ser usado sem afetar o crescimento, a taxa de consumo, a conversão alimentar, a taxa de retenção proteica, a taxa de sobrevivência, a composição da carcaça e as propriedades organolépticas dos filés. Em contrapartida Robinson e Lee (2008), sugeriram a suplementação das dietas com lisina para sustentar um crescimento satisfatório quando a inclusão de DDGS fosse de 30%. No entanto, pesquisas feitas por Robinson e Li (2008) e Lim et al. (2009) reportaram que, a gordura corporal do peixe alimentado de dietas contendo DDGS aumentou quando comparado com a dieta controle.

Em trabalhos feitos com peixes marinhos, os autores sugeriram que o DDGS é um bom ingrediente para substituir outras proteínas de origem vegetal tais como a farelo de trigo e o glúten de milho. Rahma, Choi e Lee (2013) observaram um bom desempenho nos juvenis de choupas (*Acanthopagrus schlegeli*) alimentados com dietas contendo 24% de DDGS. Por outro lado, Magalhães (2013), avaliou o coeficiente de digestibilidade de diferentes fontes de DDGS e seus efeitos nas enzimas digestivas no robalo (*Dicentrarchus labrax*) e corvina (*Argyrosomus regius*), e observou que a digestibilidade da proteína e lipídios foi superior a 82% e a digestibilidade da matéria seca e da energia foram moderados (57-66% e 58-68%).

Para o camarão da água doce, gigante da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), níveis até 40% de DDGS podem ser inclusos nas dietas (TIDWELL et al., 1993a). A substituição da farinha de peixe com farelo de soja e DDGS aumentam os níveis de glutamina, prolina, alanina, leucina e fenilalanina e diminui o ácido aspártico, glicina, arginina e lisina nas dietas (TIDWELL et al., 1993b). O DDGS pode ser consumido diretamente por juvenis de camarão (COYLE; NAJEEULLAH; TIDWELL, 1996). Lim et al. (2009) referiram que, a farinha de aves, farinha de ervilha e o DDGS podem substituir até 10% da farinha de peixe nas dietas para o camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

O potencial efeito do uso de DDGS em aquacultura é também o de melhorar a resposta imune e resistência a certas doenças no peixe. A inclusão de 40% de DDGS nas dietas de bagre americano (*Ictalurus punctatus*) providenciaram a resistência contra *Edwardsiella ictaluri* (LIM; YILDIRIMAKSOY; KLESIUS, 2009), e na tilápia conferiu resistência contra *Streptococcus iniae*, e provavelmente os fatores que contribuíram para esta resposta foram os compostos

biologicamente ativos derivados do fermento o qual compreende 4 a 7% do DDGS (LIM et al., 2007).

O uso de DDGS na aquacultura tem sido limitado, mas há oportunidades para utilização das quantidades significativas disponíveis para ser alcançado um bom desempenho e serem reduzidos os custos com a alimentação. Associado a isto existe a questão da redução de liberação de nitrogênio e fósforo nos efluentes da água, pois o farelo de soja e o DDGS são relativamente ricos em proteínas, mas a quantidade de fosforo é muito menor nestes ingredientes comparado com a farinha de peixe. Como resultado, substituindo farinha de peixe e o farelo de soja pelo DDGS em dietas usadas em aquacultura pode-se reduzir o nível total de fósforo na dieta e consequentemente reduz o nível de fósforo nos efluentes de água (U.S. GRAINS COUNCIL, 2012).

Mais pesquisas são necessárias para determinação dos níveis de inclusão ideiais do DDGS nas dietas de diferentes espécies de peixes, bem como, para melhorar a caracterização dos benefícios e limitações da inclusão do DDGS no desempenho produtivo, no desenvolvimento reprodutivo, na qualidade de óvulos e de espermatozoides, com o intuito de assegurar a máxima produção de gametas, e maior desenvolvimento de larvas e alevinos.

2.6 Lambari-de-rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*)

Astyanax altiparanae (GARUTTI; BRITSKI, 2000) é a nova designação para o lambari-de-rabo-amarelo que era anteriormente classificado como *Astyanax bimaculatus*. Vernacularmente, esta espécie tem várias designações tais como: tambuí, tabuão, piaba, piabinha, matupiris, mojarra, entre outros (SALARO et al., 2015). Este é amplamente distribuído na bacia do rio Tietê e seus afluentes (PORTO-FORESTI et al., 2005), do nordeste brasileiro até a bacia do Prata (VILELA; HAYASHI, 2001; COTAN et al., 2006).

O lambari-de-rabo-amarelo é uma espécie de pequeno porte, atinge de 10 a 15 cm de comprimento, e pode alcançar até 60 gramas de peso vivo (PORTO-FORESTI et al., 2005). É de fácil obtenção de alevinos, carne de excelente paladar e atinge o tamanho comercial com três meses de idade (CARVALHO et al., 2001). Chega a maturidade sexual com cerca de 4 meses de idade, frequentemente com 7 a 9 cm de comprimento para os machos e 9 a 12 cm de

comprimento para as fêmeas. Na época reprodutiva, apresenta dimorfismo sexual, as fêmeas além de serem maiores, possuem o corpo arredondado, e comumente são mais precoces no crescimento do que os machos. Observa-se ainda que na fase de reprodução as fêmeas apresentam forte irrigação por vasos sanguíneos na região ventral do corpo, com maior frequência na base de inserção das nadadeiras peitorais e ventrais, e as gônadas chegam a representar 13 a 20% do peso corporal (PORTOFORESTI et al., 2005).

Quanto aos machos, estes são menores, possuem o corpo alongado e na época da reprodução observa-se espículas na nadadeira anal, tornando-a áspera ao toque. Esta característica é importante para a seleção de indivíduos para a reprodução induzida, já que quanto mais áspera a nadadeira mais maduro sexualmente é o macho. As gônadas dos machos na época reprodutiva representam apenas 2 a 5% do peso corporal (PORTO-FORESTI et al., 2005). O processo de desova e fertilização dos ovos pode ocorrer naturalmente no viveiro, sem a necessidade de indução hormonal. No entanto, também pode ser realizada a indução hormonal seguida de extrusão manual ou de desova natural (SALARO et al., 2015).

De uma forma geral, os lambaris são peixes de hábito onívoro alimentando-se de vegetais, algas, larvas de insetos aquáticos e material em decomposição. São considerados peixes de alta flexibilidade alimentar, o que permite seu cultivo comercial com a utilização de dietas confeccionadas a base de ingredientes de baixo custo e boa disponibilidade no mercado (CARVALHO et al., 2001; SALARO et al., 2015). A exigência por proteína e energia dos lambaris é relativamente baixa, estes peixes apresentam boa eficiência na utilização da proteína oriunda de ingredientes de origem animal assim como de origem vegetal. Os ingredientes alternativos como a farinha de vísceras de aves e resíduos da filetagem da tilápia do nilo, são utilizados com sucesso na formulação de dietas para esta espécie (BOSCOLO et al., 2012). Assim sendo, as exigências em aminoácidos essenciais estimadas para o lambari-do-rabo-amarelo são similares as de outras espécies de peixes (ABIMORAD; CASTELLANI, 2011).

Hayashi et al. (1999) determinaram a exigência de proteína bruta para alevinos de lambari-do-rabo amarelo e observaram efeito quadrático entre 28 e 40%. Em contrapartida Cotan et al. (2006) consideraram que, em juvenis de *Astyanax altiparanae* a exigência de energia digestível de 2900 kcal/kg em rações contendo 32 ou 38% de proteína bruta supre com os requerimentos nutricionais destes peixes. Sussel et al. (2014) constataram que, uma ração contendo 26% de

proteína bruta é ideal para potenciar o crescimento de lambari cultivado em tanques rede. Por outro lado, Salaro et al. (2015) referiram que, ainda são poucas as informações sobre a influência da alimentação dos reprodutores de lambaris sobre o desempenho reprodutivo destes.

No Brasil, a produção do lambari em grande escala tem demonstrado importantes implicações econômicas para o mercado comercial (PORTO-FORESTI et al., 2005). Sussel citou que atualmente a produção brasileira de lambaris é da ordem de 120 milhões de unidades por ano, sendo o estado de São Paulo o maior produtor (80 milhões por ano). O principal sistema de produção é em tanques escavados, também podem ser produzidos em tanques redes e em sistema fechado de recirculação de água. Em tanques escavados a produtividade é de 40 lambaris por m², enquanto que em sistemas intensivos (tanque rede ou recirculação) pode-se produzir de 600 a 1000 peixes por m³ (informação pessoal)¹.

A procura por lambaris para serem usados como isca viva nas atividades de pesca esportiva tem aumentado bastante, fato que potencia o aparecimento de novos empreendimentos de produção em larga escala deste produto (PORTO-FORESTI et al., 2010). O lambari serve para o consumo direto (FERREIRA et al., 2014), é empregado como peixe ornamental, como peixe larvófago no combate às larvas de pernilongos (SATO et al., 2006) e como atrativo para cardume de atum (engodo) (SUSSEL, 2015). Atualmente o lambari é usado como modelo biológico (DRUMMOND et al., 2000; FELIZARDO et al., 2012; GOMES; COSTA; BORELLA, 2013; YASUI et al., 2015).

¹ SUSSEL, F.R. **Situação atual de produção do lambari no Brasil**. Mensagem recebida por sussel@apta.sp.gov.br em 11 de fevereiro de 2016.

3 METODOLOGIA

3.1 Local de realização da pesquisa

A parte experimental de desempenho produtivo e reprodutivo foi realizado na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Pirassununga - Polo Regional da APTA Centro-Leste; órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Os peixes eram provenientes de reprodução induzida realizada nesta mesma estação de pesquisa.

As análises de composição centesimal dos ingredientes, das dietas experimentais, das carcaças e dos músculos dos peixes foram realizadas no Laboratório de Aquacultura do Departamento de Zootecnia, da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP).

As dietas experimentais foram extrusadas no Laboratório de Aquacultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luís de Queirós (ESALQ) -USP em Piracicaba-São Paulo.

A avaliação da qualidade do sêmen foi realizada no Instituto Chico Mendes de Conservação a Diversidade (ICMbio/CEPTA), Pirassununga, São Paulo, Brasil.

A análise histológica dos ovários e testículos foram feitas no Laboratório de Ciência e Ambiente da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos-USP.

3.2 Análises químicas

Para a determinação da composição bromatológica do DDGS do milho, dos ingredientes que foram usados para a formulação das dietas (Tabela 2), das dietas experimentais, das carcaça e dos músculos dos peixes usou-se a metodologia descrita pela (AOAC, 2000): a matéria seca (MS) foi obtida por secagem a 105°C na estufa numa duração de 4 horas, o teor de proteína (PB) pelo método de micro-Kjeldahl ($N \times 6,25$) após digestão ácida, o extrato etéreo (EE) foi determinado por extração através do aquecimento do éter de petróleo no aparelho de Soxhlet durante 6 horas, a energia bruta (EB) foi obtida usando a bomba calorimétrica. Para a determinação da fibra bruta (FB) foi feita a digestão em detergente ácido e a matéria mineral (MM) foi obtida por incineração a 550°C na mufla durante 4 horas.

Tabela 2 - Composição bromatológica dos ingredientes usados para formulação das dietas (Matéria natural).

Ingredientes	Parâmetros			
	%MS	%PB	%EE	%MM
DDGS	92,92	33,60	4,04	2,03
Farelo de arroz	91,74	13,95	15,79	9,79
Quirera de arroz	89,27	9,05	1,34	0,56
Farelo de trigo	90,29	18,45	4,08	5,54
Farelo de soja	88,93	50,75	2,20	7,79
Milho grão	89,25	9,48	4,56	1,30
Farinha de peixe	97,69	63,06	7,94	27,47
Farinha de vísceras de aves	97,24	69,84	12,30	14,99
Protenose	92,17	73,49	3,07	2,17

%MS- matéria seca, %PB- proteína bruta, %EE-extrato etéreo, %MM-matéria mineral. Fonte: Autoria própria.

3.3 Delineamento Experimental e Dietas Experimentais

A partir dos resultados obtidos nas análises químicas dos ingredientes foram formuladas as dietas experimentais isoprotéicas e isoenergéticas usando a matriz do programa “*SOLVER*” de EXCEL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) composto por quatro tratamentos e quatro repetições. No presente estudo, o DDGS foi adicionado nas dietas experimentais nas seguintes proporções: 0, 10%, 20% e 30%, em substituição parcial ou total do farelo de soja e quirera de arroz (mistura feita com intuito de facilitar a substituição direta com o DDGS), e os demais ingredientes foram mantidos constantes (Tabela 3). Para os lambaris na fase larval/alevinos a sua ração foi farelada e para a fase de crescimento e de reprodução a ração foi extrusada (granulometria de 2 mm). As dietas foram extrusadas usando uma extrusora da marca Imbramarq modelo PQ-30 de 30kg/hora de capacidade de processamento, seguidas de secagem durante 12 horas em estufa de recirculação de ar, a uma temperatura de 55-60⁰ C.

Tabela 3- Formulação e composição química das dietas experimentais (Matéria natural).

Ingredientes	Dietas (DDGS)			
	0%	10%	20%	30%
DDGS¹	0	10	20	30
Farelo de soja	18,9	12,6	6,3	0
Milho (grão)	8	8	8	8
Farelo de arroz	9	9	9	9
Farelo de Trigo	14	14	14	14
Quirera de arroz	11,07	7,38	3,69	0
Glúten de milho	15,7	15,7	15,7	15,7
Farinha de vísceras de aves	8,5	8,5	8,5	8,5
Farinha de Peixe	10	10	10	10
Óleo de linhaça	2,28	2,27	2,26	2,25
Fosfato bicálcico²	0,85	0,85	0,85	0,85
Sal comum	0,13	0,13	0,13	0,13
DL-Metionina³	0,5	0,5	0,5	0,5
L-Lisina HCl³	0,5	0,5	0,5	0,5
Vitamina C³	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix de vitaminas e minerais (5kg/ton)⁴	0,5	0,5	0,5	0,5
BHT⁵(antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100	100	100	100
Composição analisada				
MS (%)	95,06	90,52	94,97	96,59
EB (Kcal/kg)	4770,07	4800,61	4900,70	4995,95
ED (Kcal/kg)⁶	3300,26	3300,26	3300,26	3300,26
PB (%)	36,50	36,23	36,10	36,65
PD (%)⁶	30,20	30,12	30,04	29,96
EE (%)	5,35	6,20	6,85	7,86
MM (%)	8,37	8,10	7,65	7,32
FB (%)	3,59	4,20	4,97	5,50
Pdisp⁶	0,71	0,79	0,87	0,95

¹Doador pela Usina *flex* do Mato Grosso. ²Composição a base do Rostagno (2011). ³Com base nos valores propostos por Furuya (2010) e Rostagno (2011). ⁴Composição do premix vitamínico e mineral: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 250.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato Ca - 4.000 mg; vit. C - 10000 mg; biotina - 10 mg; Inositol - 1.000; nicotinamida - 7.000; colina - 10.000 mg; Co - 10 mg; Cu - 1.000 mg; Fe - 5.000 mg; I - 200 mg; Mn - 1500 mg; Se - 30 mg; Zn - 9.000 mg³ ⁵Butil hidroxitolueno. ⁶Valor calculado com base nos valores de energia digestível e proteína de milho, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de vísceras das aves e farinha de peixe para tilápia (Furuya 2010). Fonte: Autoria própria.

3.4 Peixes e condições experimentais

O experimento teve duração total de 150 dias e foram utilizados 2400 alevinos de lambari com peso médio inicial de $0,42 \pm 0,04$ g (média $\pm$ desvio padrão), em 16 tanques de fibrocimento com 1,0 m x 1,0 m x 0,6 m, respectivamente ao comprimento, largura e altura, perfazendo o volume de 500 litros de água, já que a coluna d'água foi de 0,50 m. Os tanques estavam munidos com aquecedores de 500W e sistema de recirculação de água por meio de filtro biológico individual com capacidade de vazão de 1L/minuto. Cada unidade experimental foi composta por 150 alevinos, onde a densidade de estocagem foi de 0,3 peixes/ L.

O período de adaptação ao ambiente foi de 15 dias. Seguindo a metodologia descrita por Hayashi et al. (2004) os peixes foram alimentados 4 vezes ao dia (8, 10, 12 e 16 horas) nos primeiros 2 meses e nos seguintes meses reduziu-se a frequência de alimentação para 2 vezes ao dia (9 a 16 horas) foi usada a taxa de arraçoamento de 5%, a ração foi administrada até a saciedade aparente dos peixes, sem que houvesse sobras. A temperatura de água foi mantida a 26⁰ C e fotoperíodo foi de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Semanalmente foram medidos o pH, a amônia total e nitrito usando kits comerciais (LabconTest). Para a medição diária (8:00 da manhã e 5:00 da tarde) da concentração de oxigênio dissolvido e da temperatura foi utilizado oxímetro YSI Pro 20.

3.5 Biometrias e determinação de parâmetros produtivos

Mensalmente, após jejum de 24 horas os peixes foram pesados em grupo por unidade experimental. Com esses resultados foi determinado o ganho de peso médio (GPM) (Fórmula 1), a taxa de ganho de peso (GP%) (Fórmula 2), o índice de conversão alimentar (CA) (Fórmula 3), a taxa de crescimento específico (TCE) (Fórmula 4), índice de crescimento instantâneo (ICI) (Fórmula 5) (NRC, 2011), a taxa de eficiência protéica (TEP) (Fórmula 6) e a taxa de sobrevivência (TS%) (Fórmula 7) (GONÇALVES, 2010).

Após 90 dias de alimentação foram selecionados aleatoriamente e sacrificados 30 peixes de cada repetição com uma dose excessiva de anestésico (0,1g de benzocaina/L). Os peixes foram pesados e medidos o comprimento padrão e total (cm) usando paquímetro. Em seguida, 15 peixes

foram filetados e os outros 15 foram mantidos inteiros e conservados em congelador a -20⁰ C para a posterior análise da composição química. Determinou-se o fator de condição corporal (Kp), (Fórmula 8) (ROYCE, 1972) para os peixes que foram induzidos a reprodução. As fórmulas usadas para o cálculo dos parâmetros produtivos são descritas abaixo:

$$GPM = (\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}) \quad (1)$$

$$GP (\%) = \frac{(\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) \times 100}{\text{Peso inicial}} \quad (2)$$

$$CA = \frac{\text{Consumo da ração}}{\text{Ganho de peso}} \quad (3)$$

$$TCE (\%) = \left(\frac{\ln \text{Peso Final} - \ln \text{Peso Inicial}}{\text{Número de dias}} \right) \times 10 \quad (4)$$

$$ICI = \text{Peso inicial} \left(1 + \frac{\alpha}{100} \right)^t; \alpha = \frac{\ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial}}{\text{número de dias}} \quad (5)$$

$$TEP = \frac{\text{Ganho de Peso}}{\text{Consumo de Proteína Bruta}} \quad (6)$$

$$TS (\%) = \frac{\text{Número de animais vivos}}{\text{Número inicial de animais}} \times 100 \quad (7)$$

$$Kp = \frac{P}{CP^b} \times 100$$

onde P = peso (g) e CP = comprimento padrão (cm), b=coeficiente de regressão (8)

3.6 Seleção dos reprodutores e determinação de parâmetros reprodutivos

3.6.1 Preparação dos reprodutores

Depois dos 90 dias de alimentação os peixes foram mantidos nas mesmas condições experimentais para avaliação dos parâmetros reprodutivos. Com 150 dias de criação foram selecionados de cada unidade experimental 3 fêmeas que apresentavam características aptas a reprodução, ou seja: ventre abaulado, macio e a papila urogenital avermelhada. O peso e comprimento médio destas fêmeas foi de $17,47 \pm 2,67$ g e $9,63 \pm 0,45$ cm respectivamente. Da mesma forma, 3 machos que apresentavam espículas na nadadeira anal foram selecionados, os quais apresentaram peso médio de $10,83 \pm 2,23$ g e de comprimento médio $8,27 \pm 0,13$ cm. Os casais foram distribuídos em 14 caixas de 50 L munidas de sistema de aquecimento, aeração e circulação constante de água.

Para a indução da desova utilizou-se hipófise de carpa. A hipofisação ocorreu de acordo com a metodologia descrita por Woynarovich e Horváth (1980) e Harvey e Carolsfeld (1993), onde as fêmeas receberam 5 mg/kg de extrato hipofisário em duas doses sendo 10% da solução hormonal na primeira dose e o restante após 6 horas. Os machos receberam dose única de 3mg/kg no mesmo momento da segunda dose das fêmeas. O local da administração hormonal foi na base da nadadeira peitoral e a posição da agulha foi no sentido caudal. A desova ocorreu naturalmente, ou seja, sem a necessidade de extrusão dos gametas.

3.6.2 Índice gonadossomático (IGS%)

Foram selecionados e sacrificados 5 fêmeas e 5 machos de cada repetição por tratamento com uma dose excessiva de anestésico de 0,1g de benzocaína/L. Posteriormente estes peixes foram pesados e retiradas as gônadas para a determinação do índice gonadossomático (IGS) (Fórmula 10) (ROMAGOSA; PAIVA; GODINHO, 1990).

$$\text{IGS (\%)} = \frac{\text{Peso das gônadas}}{\text{Peso corporal da fêmea ou macho}} \times 100$$

3.6.3 Volume total e peso dos ovos

Os ovos coletados foram transferidos para uma proveta graduada onde foram deixados para decantar e posteriormente foi estimado o volume total dos ovos. Em seguida foi estimada a quantidade (mL) de ovos por peso de fêmea. Foi removido a água e pesou os ovos.

3.6.4 Fertilidade inicial (FI) e fertilidade inicial relativa (FIR)

Para o cálculo de FI foi pesado 0,1g de ovos fertilizados de cada fêmea, e foram contados para a determinação da quantidade de ovos presentes por grama, (Fórmula 11) (GODINHO, 2007).

$$FI = \text{número de ovos/fêmea} \quad (11)$$

Para o cálculo de FIR foi utilizado o número de ovos liberados por peso de fêmea, (Fórmula 12) (GODINHO, 2007).

$$FIR = \frac{\text{Número de ovos}}{\text{Peso de fêmea}} \quad (12)$$

3.6.5 Índice de desova (ID%)

Este índice indica o rendimento da desova em relação ao peso da fêmea, (Fórmula 13) (GODINHO, 2007).

$$ID (\%) = \frac{\text{Peso da desova}}{\text{Peso da fêmea}} \times 100 \quad (13)$$

3.6.6 Taxa de fertilização (TF%)

Após 8 horas da fertilização (fechamento do blastóporo) (Sato et al., 2006; Weber et al., 2012), foi feita a análise de 100 ovos de cada fêmea em triplicata, e foram verificados os ovos férteis

(ovos translúcidos) e os inférteis (ovos opacos) com auxílio de uma lupa simples de 5X de ampliação. Os valores obtidos foram transformados em porcentagem, (Fórmula 14) (ROMAGOSA; PAIVA; GODINHO, 1990).

$$TF (\%) = \frac{\text{Número de ovos viáveis}}{\text{Total de ovos}} \times 100 \quad (14)$$

3.6.7 Fertilidade final (FF) e fertilidade final relativa (FFR)

Foi determinada a fertilidade final (Fórmula 15) a partir da taxa de fertilização e da quantidade de ovos depositados por fêmea (GODINHO, 2007).

$$FF = \frac{\text{Número de ovos viáveis}}{\text{Fêmea}} \quad (15)$$

Na determinação da fertilidade final relativa (FFR) (Fórmula 16), foi feita a razão entre o número de ovos viáveis por peso de fêmea (GODINHO, 2007).

$$FFR = \frac{\text{Número de ovos viáveis}}{\text{Peso de fêmea}} \quad (16)$$

3.6.8 Taxa de eclosão (TE %)

Foram selecionadas três amostras contendo 100 ovos férteis de cada fêmea, e 13 horas após a desova fez-se a contagem das larvas eclodidas e de ovos não eclodidos com auxílio de uma lupa simples de 5X de ampliação, os valores obtidos foram transformados em porcentagem, (Fórmula 17) (AFZAL KHAN, 2005).

$$TE(\%) = \frac{\text{Número de ovos eclodidos}}{\text{Ovos férteis}} \times 100 \quad (17)$$

3.6.9 Taxa de sobrevivência das larvas (TSL)

Para determinar a taxa de sobrevivência das larvas foram selecionados 100 ovos fertilizados em triplicata de cada fêmea e transferidos para aquários (0,31 x 0,50 x 0,34 m) com fluxo constante de água com capacidade de vazão de 1 L s^{-1} a temperatura da água era de $25 \pm 1,0^\circ \text{C}$. Após 3 dias da eclosão, as larvas foram coletadas e contadas as larvas vivas e em seguida foi determinada a taxa de sobrevivência das larvas pela (Fórmula 18) (ROMAGOSA; PAIVA; GODINHO, 1990).

$$TSL(\%) = \frac{\text{número de larvas vivas}}{\text{número de ovos fertilizados}} \times 100 \quad (18)$$

3.6.10 Diâmetro dos ovos (DO) e comprimento das larvas (CL)

Primeiramente os ovos e as larvas foram fixados na solução tamponada de formol a 4% (NAKATANI et al., 2001). Com auxílio do estereomicroscópio Zeiss Semi 2000-C a uma ampliação de 2,0 x 1,6 foi medido: o diâmetro de 50 ovos hidratados, diâmetro (μm) do saco vitelino, o comprimento total e padrão (μm) de 50 larvas recém eclodidas de cada repetição por tratamento.

3.6.11 Avaliação do sêmen

Três exemplares de machos de cada repetição com $10,83 \pm 2,23 \text{ g}$ de peso vivo foram induzidos à reprodução com hipófise de carpa (3mg/kg). Após seis horas os peixes foram anestesiados com solução contendo benzocaína (50mg/L) e em seguida, a papila urogenital de cada peixe foi seca com toalha de papel e fez-se a compressão abdominal no sentido ântero-posterior, o sêmen foi coletado com micropipeta Eppendorf de 1000 μL e posteriormente foi transferido para um tubo de 1,5 mL contendo 400 μL de solução de ringer modificada (128.3 mM

NaCl, 23.6 mM KCl, 3.6 mM CaCl₂, 2.1 mM MgCl₂) para imobilização dos espermatozóides (YASUI et al., 2015). Os eppendorfs com o sêmen foram mantidos em condição de refrigeração (15⁰ C) e foram avaliados os seguintes parâmetros:

3.6.11.1 Concentração espermática (CE)

Para a aferição da concentração espermática, foi coletado 5µL do sêmen de cada peixe diluído em solução de ringer e foi transferida para um tubo, o qual foi adicionado 995µL de solução fixadora (5% NaHCO₃, 1 % formalina). Consecutivamente, foi realizada a contagem de células em câmara de Neubauer após a sedimentação dos espermatozóides por aproximadamente 5-10 minutos e foi feito o cálculo, (Fórmula 19) (SANCHES et al., 2011).

$$CE \text{ (esp/mL)} = \text{média de esp. em 5 retículos} \times 25 \times 10 \times 200 \times 1000$$

(19)

Onde: 25 = número total dos retículos da câmara de Neubauer; 10 = equivale a 0,1mm de profundidade da câmara de Neubauer; 200 = fator de diluição; 1000 = fator de conversão de mm³ para mL.

3.6.11.2 Viabilidade espermática (VE %)

Foi determinada a quantidade dos espermatozóides vivos e mortos usando o kit de viabilidade espermática (Sperm Viability Kit, Molecular Probes, USA) e microscópio de fluorescência (Axioplan 2, ZEISS, United States), acoplado a câmera CCD (MC 80 DX, ZEISS, United States). Todas as lâminas foram fotografadas e concomitantemente foram contados os espermatozóides vivos (côr verde) e os mortos (côr vermelha) presentes na lâmina, e os resultados foram apresentados em porcentagem.

3.6.11.3 Motilidade espermática (MOT %)

Foi retirada uma alíquota de 1 µL de sêmen e colocada na câmara de Makler previamente revestida com albumina bovina sérica (BSA 1%). Para ativação dos espermatozóides foram

adicionados 19 μL de água destilada ao sêmen na placa. A motilidade foi registrada e armazenada em vídeo utilizando o software Nis-ArElements para posterior análise da motilidade usando o *software Computer assisted sperm analysis* (CASA) (RURANGWA et al., 2001). Avaliou-se as seguintes variáveis: Motilidade espermática (MOT %), Velocidade Espermática Curvilinear (VCL $\mu\text{m/s}$), Velocidade Média de Deslocamento (VMD $\mu\text{m/s}$) e Velocidade espermática em linha reta (VLR $\mu\text{m/s}$). Foi considerado o tempo de 10 segundos após a ativação dos espermatozóides (SANCHES, 2010).

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

Para avaliar o desenvolvimento gonadal e analisar a morfologia das estruturas dos ovários e dos testículos foram feitos exames histológicos. Dos peixes que foram sacrificados para a determinação do índice gonadossomático foram seccionados segmentos dos ovários e testículos de duas fêmeas e dois machos. Estas amostras foram fixadas em solução de Bouin (700 mL de ácido pícrico, 250 mL de formol e 50 mL de ácido acético) durante 12 horas, e em seguida as amostras foram conservadas em álcool etílico a 70% até serem processadas. Após a fixação do material, foi feita a inclusão que consistiu em submeter as amostras a várias lavagens com álcool, xilol e parafina. Posteriormente foram feitos cortes usando o micrótomo, com espessura do corte de 4 μm , e em seguida as amostras foram desparafinadas, reidratadas e submetidas à coloração usando como corantes a hematoxilina e eosina. Utilizando-se um microscópio óptico Zeiss Primo Star acoplado à câmera digital Axion Cam MRC, todas as lâminas foram observadas e fotografadas.

3.7 Análise de viabilidade econômica

De acordo com Gameiro (2009), não foram consideradas as despesas referentes ao custo de energia, insumos para indução hormonal (hipófise, seringa, agulhas e soro fisiológico), a mão de obra, embalagem, comercialização, marketing e impostos incidentes na venda, porque estes custos fixos têm pouco impacto sobre o modelo experimental aplicado neste trabalho, já que o interesse era sobre os itens variáveis (níveis de DDGS nas dietas).

Obedecendo a metodologia descrita por Hoffman (2006) para a determinação dos custos totais da produção de cada dieta, primeiramente foi feito um levantamento histórico dos últimos

10 anos (dezembro de 2005 a dezembro de 2015) dos preços dos ingredientes usados para confeccionar as dietas, recorrendo aos dados disponibilizados pelo Instituto de Economia Agrícola (IEA – APTA) para o preço de farelo de soja, farelo de trigo, farelo de arroz e sal comum. Os valores históricos do milho foram obtidos através do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Para os demais ingredientes (DDGS, farinha de peixe, farinha de vísceras, quirera de arroz, fosfato bicálcico, premix, aminoácidos sintéticos, vitamina e BHT) os preços foram obtidos através do contato direto com os fornecedores. Os valores obtidos foram corrigidos pelo índice acumulado a partir de janeiro de 1993 para os últimos 10 anos (dezembro de 2005 a dezembro de 2015) e foi obtida a média dos preços. Para o cálculo do preço real dos ingredientes foi usada a seguinte (Fórmula 20):

$$PRI (n) = PN \times \frac{INPC (Dez 2015)}{INPC_n} \quad (20)$$

Onde: $PRI_{(n)}$ = preço real do ingrediente no mês n. PN = preço nominal do ingrediente no mês n.

$INPC_{(Dez 2015)}$ = índice acumulado a partir de Janeiro de 1993 para o mês de dezembro de 2015.

$INPC_n$ = índice acumulado a partir de janeiro de 1993 para o mês n.

Tabela 4 - Preços corrigidos dos ingredientes usados na formulação das dietas dos lambaris-de-rabo-amarelo contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Ingredientes	Preço/Kg (R\$)
DDGS*	0,05
Farelo de soja**	1,22
Milho (grão) ***	0,48
Farelo de arroz**	0,59
Farelo de Trigo**	0,67
Quirera de arroz*	1,35
Glúten de milho*	2,95
Farinha de vísceras de aves*	3,80
Farinha de Peixe*	4,60
Óleo de linhaça*	75,00
Fosfato bicálcico*	3,30
Sal comum*	0,70
DL-Metionina*	38,00
L-Lisina HCl*	9,80
Vitamina C*	250,00
Premix de vitaminas e minerais (5kg/ton) *	20,57
BHT*	142,00

* Fornecedores, ** IEA, *** CEPEA

Posteriormente foi feito o cálculo do custo total das dietas por tratamento, multiplicando-se o valor dos preços reais com a quantidade dos ingredientes inclusos na formulação das dietas, (Fórmula 21):

$$CTD = PRI (n) \times QI \quad (21)$$

Onde: CTD = custo total das dietas por tratamento; PRI (n) = preço real do ingrediente no mês n; QI = quantidades dos ingredientes inclusos na formulação da ração. Multiplicando CTD com a conversão alimentar dos tratamentos (CA) (COYLE et al., 2004) foi obtido o custo do ganho (CG)

por tratamento (Fórmula 22):

$$CG = CTD \times CA \quad (22)$$

3.8 Avaliação estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com posterior estudo de regressão para identificar possíveis tendências de resposta em função do aumento do nível de DDGS. Antes dessas análises, as pressuposições de uso da ANOVA foram avaliadas utilizando o SAS/LAB (SAS Institute, Cary, NC, EUA).

Quando necessário, foram feitas transformações das variáveis e observações atípicas foram retiradas dos dados de análise. Nas análises de variância e testes de tendência utilizou-se o PROC GLM do SAS e no ajuste das curvas, o PROC REG do SAS. O nível de significância adotado nos testes foi de 5%.

Os resultados da análise de viabilidade econômica foram submetidos à análise da variância (ANOVA), e em caso de significância, os dados foram testados pelo teste de comparação de médias (Tukey) a nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição das dietas e qualidade da água

A composição centesimal das dietas experimentais revelou que a energia bruta, extrato etéreo e a fibra bruta aumentaram, e a matéria mineral reduziu substancialmente com o aumento do DDGS nas dietas como mostra a Tabela 3. Esta ocorrência pode ser justificada pelo aumento das concentrações do DDGS nas dietas, pois os demais ingredientes foram mantidos praticamente constantes ao longo das dietas dos tratamentos.

Os parâmetros de qualidade da água foram: $26,62 \pm 1,20$ °C; $7,29 \pm 0,30$; $0,007 \pm 0,003$ ppm; $0,21 \pm 0,17$ ppm; $5 \pm 0,75$ mg L⁻¹ para a temperatura, pH, amônia, nitrito e oxigênio dissolvido respectivamente, estes valores encontram-se dentro dos padrões recomendados para o cultivo de lambari-de-rabo-amarelo reportados por Porto-Foresti et al. (2005). Desta forma os parâmetros indicadores da qualidade de água foram satisfatórios para o crescimento do lambari-de-rabo-amarelo neste trabalho.

4.2 Desempenho Produtivo

O crescimento e a deposição de novos tecidos são comumente usados para avaliar as modificações na dieta de um nutriente. O crescimento potencial dos animais aquáticos pode ser mensurado pela mudança de peso ou comprimento do organismo e, é influenciado pela idade, genética, condições ambientais e consumo de alimentos (NRC, 2011).

Os resultados obtidos neste estudo referentes a avaliação dos parâmetros de crescimento do lambari-de-rabo amarelo são apresentados na Tabela 5. Estatisticamente, em quase todos os parâmetros produtivos não foram verificadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos exceto as médias da CA que tiveram uma tendência ($P \leq 0,07$) a aumentar quando o nível de inclusão do DDGS foi aumentado, e a variável TEP teve tendência ($P \leq 0,07$) a reduzir com incremento da inclusão do DDGS nas dietas, portanto o comportamento destas variáveis pode ser explicado por polinômio do primeiro grau. No maior nível de inclusão de DDGS (30%), as variáveis CA e TEP foram prejudicadas.

Tabela 5 - Índices produtivos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Variável	DDGS				Estatística					
	0%	10%	20%	30%	E.P	CV (%)	P-valor	T. tendência		
								P-valor		
								1 ₀	2 ₀	3 ₀
PI	0,41	0,42	0,43	0,44	0,02	9,41	NS	NS	NS	NS
PF	11,75	11,21	11,72	10,31	0,49	8,80	NS	NS	NS	NS
CT	8,79	8,73	8,64	8,65	0,14	3,14	NS	NS	NS	NS
CMR (MS)	14,22	13,79	14,48	13,78	0,54	7,61	NS	NS	NS	NS
GPM	11,34	10,78	11,33	9,87	0,50	9,28	NS	NS	NS	NS
GP (%)	2762,07	2567,03	2673,72	2293,64	192,20	14,93	NS	NS	NS	NS
CA	1,26	1,28	1,29	1,40	0,05	7,52	NS	0,07	NS	NS
TCE	0,04	0,04	0,04	0,04	0,00	4,32	NS	NS	NS	NS
ICI (%)	38,57	39,47	39,94	40,50	1,92	9,67	NS	NS	NS	NS
TEP	2,19	2,16	2,17	1,96	0,08	7,35	NS	0,07	NS	NS
TS	96,25	94,25	95,25	97,75	1,92	4,01	NS	NS	NS	NS

CT-comprimento total, PI-peso inicial, PF- peso final, CMR(MS)- consumo médio da ração (matéria seca), GPM- ganho de peso médio, GP(%)- taxa de ganho de peso, CA-conversão alimentar, TCE- taxa de crescimento específico, ICI- índice de crescimento instantâneo, TEP- taxa de eficiência protéica, TS- taxa de sobrevivência, EP- erro padrão, CV(%) coeficiente de variação, P-valor- é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula; NS- não significativo a $\alpha = 0,05$.

Lim et al. (2007), observaram prejuízo da CA e TEP quando incluíram 40% de DDGS à base de milho na ração para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Contrariamente, Wu, Rosati e Brown (1996) reportaram que, dietas contendo 36% de PB e 16-49% de inclusão de DDGS resultaram num bom ganho de peso, boa CA e TEP para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*).

Li et al. (2011), justificaram o incremento da taxa de eficiência protéica, o consumo de dieta e o ganho de peso dos peixes pela existência de elevados níveis de gordura nas dietas contendo DDGS pois a gordura estimula o apetite dos peixes. Fato que foi muito bem visualizado neste estudo, pois entre os tratamentos, as variáveis ganho de peso médio (GPM), consumo médio da ração (CMR), taxa de crescimento (GP%), índice de crescimento instantâneo (IGR) e taxa de crescimento específico (TCE) foram excelentes, o que também foi potencializado pela ampla habilidade do lambari-de-rabo amarelo em digerir, converter e aproveitar muito bem os diferentes tipos de dietas confeccionadas de ingredientes de origem vegetal assim como animal.

Porém, a taxa de eficiência protéica (TEP) (1,97) foi menor e a conversão alimentar (CA) (1,4) foi maior no tratamento com maior inclusão do DDGS (30%). E esta dieta experimental possuía maior nível de extrato etéreo, maior energia bruta e fibra bruta que provavelmente poderiam ter influenciado negativamente a CA e a TEP nos peixes deste tratamento. Pezzato et al. (2000), Meurer et al. (2005) reportaram que, a utilização de níveis excessivos de lipídeos com a elevação de densidade de energia pode reduzir a disponibilidade de aminoácidos para a síntese de proteína corporal resultando em menor TEP e aumento de CA. De acordo com Gatlin III (2010), a quantidade de fibra bruta nas dietas para peixes é geralmente inferior a 7% para limitar a quantidade de material indigestível no aparelho digestivo, pois a fibra tem um menor papel como fonte de carboidratos e energia na nutrição dos peixes, altos níveis da fibra podem resultar em efeitos prejudiciais gerados pelas suas propriedades físico-químicas tais como: viscosidade, capacidade de retenção de água e a capacidade de ligação com moléculas orgânicas e inorgânicas. Em vez de fornecer nutrientes, a fibra em excesso (acima de 10%) reduz a utilização dos outros nutrientes atuando como fator antinutricional em espécies carnívoras, onívoras assim como em herbívoros (NRC, 2011). Portanto, não foi o caso deste experimento porque a dieta de 30% não excedeu a quantidade de fibra bruta considerada prejudicial a saúde dos peixes.

Vários estudos foram feitos com peixes carnívoros com o objetivo de substituir a farinha de peixe e de soja pelo DDGS nas dietas. Para tanto, Barnes, Brown e Rosentrater (2012), verificaram uma redução na taxa de crescimento e no índice de conversão alimentar quando incluíram 10% de DDGS em substituição da farinha de peixe, glúten de milho e trigo nas dietas suplementadas com aminoácidos essenciais e fitase para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Ao contrário, Overlanda et al. (2013), alimentaram a truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) com dietas contendo DDGS em substituição de farinha de ervilha, farinha de girassol e, farinha de linhaça e constataram melhoria no consumo, no GP e na CA. Para o bagre americano (*Ictalurus punctatus*), Robinson e Li, (2012) reportaram que dietas contendo 30-40% de DDGS nas rações destes peixes, a CA e TEP não foram prejudicadas.

A taxa de sobrevivência (TS) em todos tratamentos foi alta (96,25% a 97,75%) para esta variável não foi observada diferença ($P > 0,05$). Resultados semelhantes foram obtidos em outras espécies por Wu, Rosati e Brown (1996), Lim et al. (2007), Li et al. (2011) e Robinson e Li (2012).

Gatesoupe (2007) e Li et al. (2011) observaram que, o DDGS melhora o estado imunitário, conferindo resistência aos peixes contra várias enfermidades e estresse, e relacionaram esse efeito com a presença de compostos biologicamente ativos (β -glucanas) presentes no DDGS.

Os resultados obtidos neste estudo referentes as análises de composição química, das variáveis analisadas (umidade, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral) do corpo inteiro e do músculo são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição química (Matéria natural) dos peixes inteiros e dos músculos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentado com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Variável Peixe inteiro	DDGS				Estatística					
	0%	10%	20%	30%	E.P	CV (%)	P-valor	T. tendência P-valor		
								10	20	30
UM (%)	71,08	71,46	70,97	70,54	0,48	1,34	NS	NS	NS	NS
PB (%)	15,74	15,56	15,85	15,80	0,20	2,50	NS	NS	NS	NS
EE (%)	8,58	8,27	8,65	8,97	0,20	4,58	NS	0,10	NS	NS
MM (%)	3,70	3,92	3,94	3,82	0,13	6,94	NS	NS	NS	NS
Músculo										
UM (%)	76,29	76,91	76,97	76,05	0,24	0,61	0,06	NS	0,01*	NS
PB (%)	16,86	16,65	16,83	16,84	0,25	2,94	NS	NS	NS	NS
EE (%)	3,09	3,14	3,31	3,75	0,25	14,99	NS	NS	NS	NS
MM (%)	1,50	1,51	1,54	1,67	0,03	4,28	0,03*	0,03*	0,02*	NS

UM(%)- umidade; PB(%)- proteína bruta; EE(%)- extrato etéreo; MM(%)-matéria mineral; EP- erro padrão; CV(%) coeficiente de variação; P-valor- é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula; *P < 0,05; NS- não significativo a $\alpha = 0,05$.

Para as variáveis UM, PB, EE e MM dos peixes inteiros não foram verificadas diferenças (P > 0,05) (Tabela 6). Lim et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes ao alimentar a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) com dietas contendo 0, 10, 20 e 40% de inclusão de DDGS a base de milho em substituição de farelo de soja e de farinha de peixe. Concomitantemente, Li et al. (2011) também encontraram valores similares ao alimentar juvenis de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) com 0, 10, 30 e 40% de DDGS a base de trigo em substituição do farelo de soja e de milho. Por outro lado, Cheng e Hardy (2004b); Lim et al. (2007) mostraram que a matéria mineral

do corpo inteiro da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) não foi afetada pelas dietas com DDGS de milho.

Para a espécie da água doce, o bagre americano (*Ictalurus punctatus*) Li et al. (2010), Robinson e Li (2012) encontraram nos músculos destes peixes alimentados de dietas contendo alta inclusão de DDGS (40%), altos níveis de extrato etéreo comparados aos músculos de peixes da dieta controle, e relacionaram este efeito com o alto nível de extrato etéreo encontrado no DDGS.

No estudo feito por Abimorad e Castellani (2011) sobre exigência de aminoácidos do lambari-de-rabo-amarelo, utilizaram peixes de $9,2 \pm 4,2$ g de peso médio e obtiveram 18,6 e 18,9% de PB e 74,8 e 81% UM, na carcaça e no músculo respectivamente. Cotan et al. (2006) encontraram 15,35% de PB e 71% de UM na carcaça de lambaris alimentados de 32 a 38% de PB e 2900 a 3300 Kcal/kg digestível. Ainda na mesma espécie, com o intuito de avaliar a influência de diferentes fontes de óleo no crescimento e reprodução, Gonçalves et al. (2012) obtiveram em média 17,6% de PB, 72,01% de UM, 5,63 de EE e MM de 4,26% nos corpos inteiros destes peixes que foram alimentados de dietas contendo 36% de PB e 3430 Kcal/kg de energia digestível. Colateralmente, Sussel et al. (2014) determinaram valores médios de 70% de UM, 16,6% de PB, 3,5% de MM e 9,9% de EE nos corpos inteiros de lambaris-de-rabo amarelo alimentados com dietas confeccionadas a base de diferentes fontes protéicas de origem vegetal e animal. Apesar das condições experimentais da realização desses experimentos serem diferentes às desta pesquisa, os resultados da composição química do corpo inteiro e do músculo dos lambari-de-rabo-amarelo obtidos neste trabalho são semelhantes aos reportados pelos autores acima citados.

Foi observado efeito quadrático ($Y = 0,0005 \text{ DDGS}^2 - 0,0101 \text{ DDGS} + 1,5606$) para a variável MM do músculo em função do aumento das concentrações do DDGS (Figura 2).

Figura 2 - Variação da matéria mineral (MM%) no músculo de lambaris-de-rabo-amarelo em função das diferentes concentrações de DDGS.

Segundo Shearer (1994), o crescimento da massa muscular de peixes jovens é maior comparativamente as outras partes do corpo e o tamanho relativo dos tecidos e dos órgãos, sob condições nutricionais adequadas dependem do tamanho e do ciclo de vida do peixe. As diferenças entre as médias da matéria mineral encontradas nesta pesquisa, provavelmente estão relacionadas com o tamanho do peixe e os níveis de inclusão do DDGS. De acordo com Kim et al (2008) a maior quantidade de minerais presentes no corpo inteiro ou no músculo dos peixes talvez esteja relacionada com a alta biodisponibilidade do fósforo presente no DDGS, originada pela hidrólise parcial do fitato durante a fermentação e do tratamento a calor do DDGS na fase da secagem. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os achados por Li et al. (2011).

4.3 Seleção e resposta hormonal

O sucesso da desova depende da seleção criteriosa das fêmeas usando classificações subjetivas tais como aparência externa (ventre abaulado, maciez ao palpar o ventre) que poderá refletir na morfologia interna dos ovócitos (posição do núcleo, tamanho e estrutura do ovócito) e

das taxas ou índices reprodutivos (FELIZARDO et al., 2012). A seleção e a indução dos reprodutores de lambaris-de-rabo-amarelo foram feitas nos finais de outubro e início de novembro de 2015, a desova da maioria dos reprodutores ocorreu 6 horas após a aplicação da segunda dose hormonal, a temperatura da água era de $26 \pm 2,0$ °C. Mais de 75% das fêmeas induzidas responderam a indução hormonal e a hora grau foi de 130 ± 50 . Porto-Foresti et al. (2005), reportaram que a hora grau em que ocorre a desova para o lambari-de-rabo-amarelo varia de 180 a 250, sendo que quanto mais alta a temperatura da água, menor é a hora grau (SATO; FENERICH-VERANI; GODINHO, 2003), justificando desta forma a menor hora grau que as fêmeas desovaram no presente trabalho.

A época reprodutiva do lambari-de-rabo-amarelo geralmente varia. Estes podem se reproduzir o ano todo, inclusive nos meses mais frios, porém Santos, Barros e Menezes (1996) evidenciaram que a primavera é a época ideal para a reprodução. Entretanto, é mais comum a ocorrência da reprodução dos peixes nos meses chuvosos e quentes em ambientes naturais (SALARO et al., 2015) que podem variar de setembro ao final de março (PORTO-FORESTI et al., 2005). O presente experimento foi conduzido na época recomenda pela literatura, ademais as condições criadas eram favoráveis para a reprodução.

Rodrigues et al. (1992) afirmaram que, a desova do *Astyanax altiparanae* é descontínua, periódica, anual com prevalência no bimestre dezembro/janeiro. Mas para Garutti (2003) a desova do *A. altiparanae* é parcelada, podendo ocorrer desovas consecutivas em intervalos de duas ou três semanas. Os ovos coletados neste experimento eram esféricos, semi-aderentes e demersais, e a cor variava de amarelo-esverdeado a pardo, observações que corroboram com as de Azevedo e Canale (1938) e Sato et al. (2006).

4.4 Desempenho reprodutivo

Nota-se que a maioria dos resultados dos parâmetros reprodutivos (Tabela 7) não diferiram ao nível de significância de 5%, exceto para a variável fertilidade inicial (FI) ($P < 0,05$). Através do teste de tendências foi verificado que as variáveis fertilidade inicial relativa (FIR), fertilidade final (FF) e índice de desova (ID) apresentam tendência ($P < 0,05$) a reduzir quando se aumenta a

inclusão do DDGS, no entanto estas variáveis podem ser explicadas por um polinômio de primeiro grau em função do aumento de DDGS. Em paralelo as variáveis taxa de fertilidade (TF) ($P \leq 0,07$) e taxa de sobrevivência (TS) ($P \leq 0,07$) apresentaram efeito cúbico e quadrático respectivamente.

Tabela 7- Índices reprodutivos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados de dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Variável	DDGS						Estatística			
	0%	10%	20%	30%	E.P	CV (%)	P-valor	T.Tendência		
								P-valor		
	1 ⁰	2 ⁰	3 ⁰							
PF (g)	18,95	17,19	17,32	16,18	0,95	10,87	NS	0,08	NS	NS
VOD (mL)	26,46	22,50	23,00	19,29	2,76	24,21	NS	NS	NS	NS
V (mL) /g F	1,40	1,31	1,35	1,08	0,13	20,52	NS	NS	NS	NS
PTO (g)	15,99	13,34	13,29	11,46	1,65	24,41	NS	0,09	NS	NS
ID (%)	85,21	77,57	68,58	63,86	6,95	18,83	NS	0,04*	NS	NS
FI	26663,27	23936,33	21447,09	17106,36	2169,16	19,46	0,0496*	0,01*	NS	NS
FIR	1420,58	1393,00	1232,42	1067,50	1153,30	18,04	NS	0,04*	NS	NS
FF	18313,57	17282,58	12432,71	12645,59	1981,41	26,13	NS	0,03*	NS	NS
FFR	962,01	1015,97	725,07	772,91	112,29	25,84	NS	NS	NS	NS
TF (%)	67,82	72,14	58,77	72,71	4,96	14,63	NS	NS	NS	0,07
TE (%)	57,16	54,73	37,52	45,73	9,36	37,77	NS	NS	NS	NS
TSL (%)	36,20	20,11	21,15	38,12	7,44	51,67	NS	NS	0,07	NS
DO (µm)	1113,83	1109,80	1133,83	1114,17	14,37	2,57	NS	NS	NS	NS
DV (µm)	714,84	714,36	725,39	726,09	7,73	2,15	NS	NS	NS	NS
CTL (µm)	3100,37	3097,03	3200,31	3283,50	100,14	6,31	NS	NS	NS	NS
CPL (µm)	2917,22	2930,54	3019,03	3087,51	95,83	6,40	NS	NS	NS	NS

PF- peso médio da fêmea; VOD- volume de ovos desovados; V(mL)- volume de ovos/grama de fêmea; PTO(g)- peso total dos ovos; ID(%)- índice da desova; FI-fertilidade inicial; FIR- fertilidade inicial relativa; FF-fertilidade final; FFR- fertilidade final relativa; TF-taxa de fertilização; TE-taxa de eclosão;TSL- taxa de sobrevivência das larvas; DO- diâmetro do ovo; DV- diâmetro do vitelo; CTL- comprimento total da larva; CPL- comprimento padrão da larva; EP- erro padrão, CV(%) coeficiente de variação, P-valor- é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula; NS- não significativo a $\alpha = 0,05$.

Houve efeito linear decrescente ($Y = - 311,6 \text{ DDGS} + 26962$) para a variável fertilidade inicial com o aumento do DDGS nas dietas (Figura 3). A qualidade do ajuste da reta é boa ($R^2 = 0,46$), mas poderia ser melhor se o coeficiente de variação fosse menor (18,04 %). Este alto valor do coeficiente de variação pode ser esclarecido pelo motivo de que as fêmeas responderam de formas diferentes a indução hormonal. E não só, como também o DDGS poderia ter influenciado negativamente na conversão do alimento em massa de ovos nas fêmeas com o aumento da inclusão deste produto.

Figura 3 - Variação da fertilidade inicial de fêmeas dos lambaris-de rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis)

Segundo Brooks, Tyler e Sumpter (1997) e Izquierdo, Fernández-Palácio e Tacon, (2001), as condições dos reprodutores tais como idade, qualidade e quantidade do alimento ingerido, fisiologia, critérios de seleção das fêmeas e condições ambientais podem influenciar o tamanho dos ovos. No entanto, Sato, Fenerich-Verani e Godinho (2003) referem que o sucesso na fertilização depende da qualidade ovocitária que está relacionada ao tipo de hormônio utilizado

na indução e à época de desova. Colateralmente, Godinho (2007) cita que os parâmetros da fertilidade avaliam a eficiência do manejo dos reprodutores, a qualidade dos ovócitos, do sêmen, do processo da fertilização e da embriogênese.

Em suma no presente estudo foram alcançados os seguintes resultados: FI ($22288,25 \pm 2169,16$ ovos), FIR ($1278,37 \pm 115,33$ ovos/g fêmea), FF ($15168,61 \pm 1981,41$ ovos férteis), FFR ($868,99 \pm 112,29$ ovos férteis/g fêmea) e TF ($67,86 \pm 4,96$ %). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Sato et al. (2006) ao trabalhar com *Astyanax altiparanae* com o intuito de obter informações sobre a desova artificial e biologia reprodutiva e conseguiram para a FI ($17347 \pm 4990,0$ ovos), FIR ($678 \pm 85,0$ ovos/g fêmea), FF ($13118 \pm 4000,0$ ovos férteis), FFR ($511 \pm 75,0$ ovos férteis/g fêmea) e TF ($75,3 \pm 4,9$ %).

Paralelamente, Envagelista (2015) induziu a desova na primavera em lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com ração comercial (36% de PB e 3000 kcal kg⁻¹ ED) mantidos em condições controladas e obteve como resultados para FIR ($999,61 \pm 367,53$ ovos), taxa de fertilização ($71,70 \pm 26,64\%$) e a taxa de sobrevivência das larvas ($38,00 \pm 36,65\%$) respectivamente. Os resultados de FIR desta pesquisa foram maiores aos obtidos pelo autor acima descrito, pois as condições de cultivo e alimentação dos reprodutores são diferentes.

O tamanho, as distribuições da frequência das gônadas constituem aspectos que permitem estimar o período reprodutivo e o tipo de desova da espécie, fornecendo informações básicas para o incremento da produção piscícola de espécies de interesse comercial. Conforme mostra a Tabela 6, não foram observadas diferenças entre as médias dos tratamentos ($P > 0,05$) do diâmetro dos ovos (DO) e do vitelo (DV) assim como no comprimento total (CTL) e comprimento padrão das larvas (CPL). As distribuições das frequências relativas dos diâmetros dos ovos e dos comprimentos das larvas ao longo dos tratamentos são mostradas nas Figuras 4, 5, 6 e 7).

A maior frequência do diâmetro dos ovos foi encontrada no intervalo entre 1060 a 1195 μm para todos os tratamentos (Figura 4).

Figura 4 - Frequência relativa (%) dos diâmetros dos ovos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS) e T4- tratamento 4 (30% de DDGS).

Na figura 5 visualiza-se a frequência do diâmetro do vitelo que se concentra no intervalo entre 680 a 770 μm.

Figura 5 - Frequência relativa (%) dos diâmetros dos vitelos dos ovos do lambari-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS) e T4- tratamento 4 (30% de DDGS).

Relativamente, a máxima frequência de distribuição do comprimento total das larvas (Figura 6) é encontrada no intervalo entre 2740 a 3540 μm para o T1 e T2, e 2900 a 3700 μm para o T3 e T4 respectivamente.

Figura 6 - Frequência relativa (%) do comprimento total das larvas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS) e T4- tratamento 4 (30% de DDGS).

Quanto a frequência do comprimento padrão da larva observa-se (Figura 7) que, a maior distribuição foi encontrada entre o intervalo 2600 a 3400 μm para o T1, T2 e T3; μm e 2920 a 3400 μm para T4 respectivamente.

Figura 7- Frequência relativa (%) do comprimento padrão das larvas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS) e T4- tratamento 4 (30% de DDGS).

Os resultados correspondentes ao diâmetro dos ovos hidratados ($1117,91 \pm 14,37 \mu\text{m}$), diâmetro do vitelo ($720,17 \pm 7,73 \mu\text{m}$), do comprimento total ($3174,96 \pm 115,63 \mu\text{m}$) e padrão das larvas ($2993,33 \pm 95,83 \mu\text{m}$), alcançados neste estudo são semelhantes aos reportados por Sato et al. (2006) que obtiveram ($1143 \pm 33,0 \mu\text{m}$) diâmetro do ovo hidratado, ($642 \pm 28,0 \mu\text{m}$) diâmetro do vitelo e ($2284 \pm 80,0 \mu\text{m}$) de comprimento da larva. Gonçalves et al (2012) reportaram $1190 \mu\text{m}$ de diâmetro total do ovo e 2200 a $3100 \mu\text{m}$ de comprimento da larva. Felizardo et al. (2012) determinaram $1135,4 \pm 49,1 \mu\text{m}$ e Envagelista (2015) observou $611,61 \pm 31,54 \mu\text{m}$ de diâmetro do vitelo dos ovos. O tamanho dos ovos e das larvas é afetado e modulado pelo estado nutricional das fêmeas durante o desenvolvimento ovariano (BROMAGE et al., 1990), dado que explica a ligeira diferença nos resultados obtidos neste trabalho e dos outros autores.

Segundo Sato et al. (2006) o lambari-de-rabo amarelo é um peixe que produz muitos ovos por peso corporal, o diâmetro do ovo é pequeno, a larva recém eclodida é pequena e com comprimento total pequeno, portanto com base nestas características o lambari foi classificado como pertencente ao grupo dos peixes de estratégia reprodutiva oportunista. Neste contexto,

Bagenal (1996) conferiu que, espécies com pequenos oócitos tem alta fecundidade como uma estratégia reprodutiva para compensar a baixa taxa de sobrevivência das larvas produzidas em ovos pequenos, não obstante, McGurk (1986) realçou que, a mortalidade de ovos é correlacionada com o tamanho do ovo e Duarte e Alcaraz (1989) demonstraram que, existe uma relação linear entre o tamanho da larva e o tamanho do ovo, isto é, o tamanho da larva aumenta com aumento do tamanho do ovo. Fato que foi visualizado neste trabalho, larvas provenientes de ovos grandes apresentaram maior comprimento total e padrão.

Bonislawska et al. (2001) ressaltaram que, ovos muito grandes podem ter suas taxas de sobrevivência e crescimento reduzidos nos estágios iniciais de desenvolvimento pela menor eficiência no transporte de oxigênio devido a maior razão entre a superfície e volume do ovo. Fato que poderá ter ocorrido neste trabalho, já que as taxas de eclosão ($49,54 \pm 9,36\%$) e sobrevivência ($28,79 \pm 7,44\%$) foram baixos, dado que o tamanho dos ovos encontrados neste estudo para a espécie em questão foi maior do que os valores reportado pela literatura. Por outro lado, Duarte e Alcaraz (1989) referiram que, larvas provenientes de ovos grandes tem maior chance de sobreviver, pois são capazes de nadar mais rápido e de alimentarem-se de presas maiores, a duração do vitelo é maior o que confere maior resistência das larvas à fome.

Também, fêmeas que desovam pela primeira vez no seu ciclo reprodutivo, tem a sua eficiência reprodutiva menor. Bromage e Cumaranatunga (1988) constataram que, a sobrevivência dos ovos de truta arco-íris das fêmeas que ovularam pela primeira vez foi menor que as que desovaram no ano seguinte. Da mesma forma Navas et al. (1995) reportaram que, em épocas de desovas sucessivas observado em robalo europeia (*Dicentrarchus Labrax*), houve a melhoria da qualidade do ovo, assim como as taxas de eclosão e sobrevivência foram altas.

As variáveis peso, CT, CP dos machos foram consideradas significativas ($P < 0,05$) e para as fêmeas estas variáveis não foram influenciadas pela inclusão do DDGS ($P > 0,05$) (Tabela 8). As médias do Kp e do IGS dos machos não diferem entre si ($P > 0,05$). Não foi verificada diferença ($P > 0,05$) do IGS das fêmeas, porém foi verificado que a variável Kp nas fêmeas tem a tendência ($P \leq 0,07$) a reduzir quando se incrementa o DDGS.

Tabela 8 – Comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), índice de condição corporal (Kp) e índice gonadossomático (IGS) de machos e fêmeas dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Variável		DDGS						Estatística		
Machos	0%	10%	20%	30%	EP	CV	P-valor	T.tendência P-valor		
								10	20	30
Peso (g)	10,96	9,24	9,96	8,37	0,45	9,44	0,01*	0,0046*	NS	0,037*
CT	8,68	8,17	8,29	8,00	0,13	3,19	0,01*	0,0046*	NS	0,09
CP	7,28	6,78	6,93	6,56	0,14	3,95	0,01*	0,0061*	NS	0,08
Kp	2,84	2,97	2,99	2,95	0,11	7,49	NS	NS	NS	NS
IG (%)	2,49	2,82	2,54	3,08	0,21	15,66	NS	NS	NS	NS
Fêmeas										
Peso (g)	18,85	17,22	17,09	16,99	1,04	11,89	NS	NS	NS	NS
CT	9,64	9,57	9,42	9,69	0,19	3,99	NS	NS	NS	NS
CP	8,14	8,07	7,92	8,19	0,19	4,74	NS	NS	NS	NS
Kp	3,46	3,28	3,42	3,07	0,12	7,00	NS	0,07	NS	NS
IG (%)	18,17	18,01	16,43	16,06	1,12	13,09	NS	NS	NS	NS

* P < 0,05 diferença significativa entre as médias dos tratamentos, NS – não significativo a $\alpha = 0,05$.

Observa-se um efeito linear decrescente na variação do peso ($y = - 0,0707DDGS + 10,691$), CT ($y = - 0,0205DDGS + 8,5775$) e CP ($y = - 0,0202DDGS + 7,187$) dos machos em função do aumento do DDGS (Figura 8, 9 e 10), ou seja, o comprimento e o peso são inversamente proporcionais ao incremento de DDGS nas dietas. Também foi verificado que o coeficiente de variação é alto entre os pesos dos machos e das fêmeas, fenômeno justificado pelo critério usado para a seleção dos reprodutores induzidos a desova, que foi baseado na distinção das características sexuais secundárias tais como: aumento do abdômen com vascularização intensa nas fêmeas e, presença de espículas na nadadeira anal nos machos.

Figura 8 – Variação do peso dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Figura 9 – Variação do comprimento total dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Figura 10 - Variação do comprimento padrão dos lambaris-de-rabo-amarelo (machos) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Nas fêmeas o índice gonadosomático (IGS) é um indicativo eficaz do estado funcional dos ovários dos peixes, visto que existe uma relação direta entre o processo de maturação ovocitária com o aumento de volume das gônadas. Em machos, nem sempre este índice representa corretamente a condição reprodutiva (VAZZOLER, 1996). O IGS médio encontrado neste trabalho para as fêmeas de todos os tratamentos foi de $17,17 \pm 1,12\%$ e para os machos foi de $2,73 \pm 0,21\%$. Estes resultados encontram-se dentro dos intervalos reportados por Porto-Foresti et al. (2005) em que nas fêmeas do lambari-de-rabo amarelo as gônadas chegam a representar 13 a 20% do peso corporal e nos machos na época reprodutiva representam apenas 2 a 5% do peso corporal. Em lambaris alimentados de diferentes fontes lipídicas foi determinado IGS médio de 16,77% (GONÇALVES et al., 2012). Felizardo et al. (2012) ao avaliar o efeito do momento da indução hormonal na actividade reprodutiva *Astyanax altiparanae* obtiveram $18,0 \pm 7,9\%$ e Sato et al. (2006) mensuraram $18,0 \pm 1,5\%$ ao estudar a biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae. Por outro lado, Agostinho et al. (1984), Barbieri et al. (1992) estimaram valores máximos de 7,4 e 11% respectivamente para o gênero *Astyanax*. Garutti (1989)

indicou valores ao redor de 13% nas fêmeas maduras em ambiente natural. Estes valores referidos acima são inferiores aos obtidos nesta pesquisa, porque o experimento foi conduzido em ambiente controlado e o alimento esteve sempre disponível para os peixes.

Neste trabalho machos e fêmeas foram mantidos juntos no decurso do experimento, mas o IGS dos machos não foi muito alto quanto ao observado por Navarro et al. (2006) que, revelaram que as fêmeas e machos de gênero *Astyanax* quando criados juntos apresentam IGS maiores em média de 17,02% nas fêmeas e 13,02% nos machos quando comparados ao cultivo de mono sexo que tem como média de IGS 12,38% para as fêmeas e 3,31% nos machos. O IGS maior nos machos cultivados na presença da fêmea parece ocorrer devido a presença das fêmeas estimularem os machos à reprodução.

A determinação da condição corporal serve como indicativo da reserva de energia, com a expectativa que um peixe tem em demonstrar altas taxas de crescimento, o potencial reprodutivo e a sobrevivência naquele ambiente (ROCHA et al., 2008). Os fatores que determinam a condição dos peixes podem ser, conforme Royce (1972): intrínsecos (genético e hormonal) e extrínsecos (densidade, clima, imunológicos, sanidade e, principalmente, a quantidade e a qualidade dos alimentos). Foi observado neste trabalho que o índice de condição corporal dos machos não foi influenciado pela inclusão do DDGS ($P > 0,05$), mas o índice corporal das fêmeas reduziu com o aumento da inclusão do DDGS, todavia não houve diferença entre as médias. O fator de condição é maior nas fêmeas do que nos machos, porque as fêmeas do lambari crescem mais rápido e são maiores do que os machos. Rodrigues et al. (1992), concluíram em suas pesquisas que o fator de condição corporal do *Astyanax altiparanae* diminuiu quando os índices gonadossomáticos atingiram o seu máximo pico de desenvolvimento. Ocorrência que não foi visualizada neste trabalho porque a coleta das gônadas foi feita em um único período.

Trabalhos que relacionam a inclusão do DDGS nas dietas para reprodutores de peixes são escassos, porém em monogástricos tais como os suínos, reporta-se a inclusão de 50% de DDGS nas dietas para fêmeas em gestação e 20% para fêmeas em lactação (STEIN, 2007). Shi et al. (2014) apontaram o uso de 12,5 a 25% de DDGS em substituição parcial e total da farinha de soja nas dietas para porcas gestantes e lactantes, e constataram que a inclusão de DDGS não afetou negativamente no desempenho das porcas e na composição do leite, ademais o consumo diário médio da ração e o ganho de peso médio dos leitões aumentou.

4.4.1. Avaliação do sêmen

A avaliação seminal constitui uma ferramenta de fundamental importância na qualificação do potencial reprodutivo dos machos, pois, permite a utilização do uso racional de gametas, bem como do número de reprodutores (BOMBARDELLI; SYPERRECK; SANCHES, 2006) otimizando desta forma a utilização destes reprodutores no processo de fertilização artificial (VIVEIROS, 2005). A eficiência da fertilização dos ovócitos pelos espermatozóides depende da qualidade espermática a qual na maior parte das vezes, é influenciada por diversos fatores como: tamanho do indivíduo, idade dos reprodutores, realização de sucessivas coletas seminais, época do ano, indução hormonal e a variabilidade na composição iônica do plasma seminal (SILVA et al., 2009; PAULINO et al., 2012). Os resultados referentes a análise do sêmen neste estudo (Tabela 9) evidenciam que a concentração espermática (CE), viabilidade espermática (VE) e motilidade espermática (ME) não foram afetados pela inclusão de DDGS nas dietas ($P > 0,05$).

Tabela 9 - Concentração espermática (CE esp/mL), viabilidade espermática (VE), motilidade dos espermatozóides (MOT%), velocidade curvilinear (VCL $\mu\text{m/s}$), velocidade média de deslocamento (VMD $\mu\text{m/s}$) e Velocidade espermática em linha reta (VLR $\mu\text{m/s}$) do sêmen dos lambaris-de-rabo amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

Variável	DDGS						Estatística			
							P-valor	T.tendência P-valor		
	0%	10%	20%	30%				1 ^o	2 ^o	3 ^o
CE (esp/mL)	4,2 x 10 ⁸	3,3 x 10 ⁸	4,1 x 10 ⁸	7,9 x 10 ⁸	1,8x10 ⁸	75,54	NS	NS	NS	NS
VE (%)	98,37	97,68	98,32	98,74	0,91	1,85	NS	NS	NS	NS
MOT (%)	63,84	72,32	67,08	59,39	5,39	16,41	NS	NS	NS	NS
E.P										CV (%)
VCL ($\mu\text{m/s}$)	91,23	91,69	89,80	87,18	3,58	7,96	NS	NS	NS	NS
VMD ($\mu\text{m/s}$)	93,83	95,70	90,80	90,59	3,70	7,98	NS	NS	NS	NS
VLR ($\mu\text{m/s}$)	73,02	77,26	71,95	75,70	1,83	4,26	NS	NS	NS	NS

EP- erro padrão, CV(%) coeficiente de variação, P-valor- é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula; NS- não significativo a $\alpha = 0,05$.

A média geral da CE foi de $4,9 \times 10^8 \pm 1,84 \times 10^8$ espermatozoides/mL, e não se evidenciou diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). No entanto, os valores de CE encontrados neste experimento estão próximos dos reportados por Yasui et al. (2015) $6,2 \times 10^8 \pm 3,9 \times 10^8$ espermatozoides/mL e Nascimento (2015) que obteve $6,75 \times 10^8 \pm 1,22 \times 10^8$ espermatozoides/mL.

A viabilidade (*stricto sensu*) é a capacidade que a célula tem para prosseguir com suas funções específicas; no caso particular dos espermatozoides, a de fertilizar o ovo. A avaliação da permeabilidade e integridade da membrana plasmática é considerada um índice de viabilidade celular porque a membrana plasmática é uma estrutura fundamental responsável, entre outras funções, pelas trocas entre o meio celular e o meio ambiente ou pela recepção de estímulo e o desencadeamento de respostas, portanto se a célula tiver a membrana danificada não seria capaz de desenvolver as suas funções, e qualquer célula não-funcional revela alterações na estrutura da membrana e ou de permeabilidade que consequentemente podem influenciar negativamente a fertilização dos ovócitos (CABRITA; ROBLES; HERRÁEZ, 2009). A média geral de viabilidade espermática alcançada neste trabalho foi de $98 \pm 0,90\%$, portanto, não foram evidenciadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos ($P > 0,05$) indicando que a viabilidade não foi influenciada pela inclusão do DDGS. Estes valores são superiores ao obtido por Nascimento (2015), que encontrou $93,03 \pm 1,67\%$ para lambaris-de-rabo-amarelo.

A avaliação automatizada da motilidade dos espermatozoides é importante devido ao fato da cinética espermática ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides (ARRUDA et al., 2011). Os espermatozoides de peixes teleósteos geralmente se movem em uma trajetória em linha reta ou ligeiramente curvado, mas em condições sub-ótimas (fim do movimento, presença de substâncias tóxicas, formulação inadequada dos meios de diluição) o movimento torna-se mais curvo ou mesmo circular (RURANGWA, 2004). A média da motilidade (MOT) entre os tratamentos foi de $65 \pm 5,39\%$, entretanto não existe diferença entre as médias ($P > 0,05$). A média de velocidade curvilínea (VCL) foi de $89,98 \pm 3,58 \mu\text{m/s}$, a velocidade média de deslocamento (VMD) foi $92,73 \pm 3,7 \mu\text{m/s}$ e a velocidade espermática em linha reta (VLR) foi de $74,58 \pm 1,83 \mu\text{m/s}$, mas estas variáveis não foram influenciadas pela inclusão do DDGS ($P > 0,05$). Yasui et al (2015) ao avaliar o efeito da presença de fêmea e do tratamento hormonal na qualidade do sêmen verificaram que a motilidade espermática aumenta significativamente com o tratamento hormonal (hipófise da carpa), nos machos mantidos

separados das fêmeas ($77,1 \pm 15,1\%$), nos machos mantidos com fêmeas não induzidas com hormônio ($70,6 \pm 15,1\%$) e nos machos mantidos com fêmeas induzidas ($82,1 \pm 4,3\%$). Kopeika e Kopeika (2008) citaram que, a análise da motilidade espermática reflete variações genética e ambiental, o que pode justificar as diferenças observadas entre os estudos. Para tanto, Salaro et al. (2015) reforçam a ideia de que um dos principais moderadores da motilidade espermática é o progresso da época reprodutiva em que os machos se encontram. O machos usados neste experimento encontravam-se na época ideal para reprodução.

4.4.2. Morfologia ovariana e testicular do lambari-de-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*).

A identificação do estágio de maturação ovariano e dos testículos assegura o momento adequado para a indução dos reprodutores usando hormônio (LEONARDO et al., 2004; BITTENCOURT et al., 2012; FELIZARDO et al., 2012). A administração de hormônios é realizada em fêmeas que apresentam oócitos que completaram a vitelogênese, e a função destes hormônios é assegurar a maturação final dos ovócitos e potencializar a desova (CABRITA; ROBLES; HERRÁEZ, 2009; ROMAGOSA, 2010), garantindo assim maior produção de ovos, e possibilitar o maior controle dos reprodutores no momento ideal para a desova (FELIZARDO et al., 2012).

Dos peixes selecionados e induzidos à reprodução neste estudo, foi constatado que todos estavam sexualmente maduros, dado confirmado pela análise histológica dos ovários e dos testículos, conforme pode ser visualizado nas Figuras 11 e 12 respectivamente. Em todos os tratamentos (Figura 11) as fêmeas apresentaram ovários em diferentes estágios de desenvolvimento ovocitário, sendo o mais predominante o estágio inicial da maturação (Figuras 11a, b, d, g, h e j). Histologicamente, verificou-se a abundância de oócitos na fase inicial de maturação, oócitos vitelogênicos, oócitos pre-vitelogênicos e oócitos primários. Nos oócitos na fase inicial de maturação o citoplasma apresentava-se repleto de grânulos de vitelo em formato esférico, glóbulos lipídicos e o núcleo emigrando para o polo animal. Nos oócitos vitelogênicos aparecem novas inclusões no citoplasma, tais como: alvéolos corticais, glóbulos lipídicos e grânulos de vitelo, a parede do oócito (zona radiata) e a parede folicular são mais grossas. Nos oócitos pré-vitelogênicos o material citoplasmático é pálido e apresenta duas camadas em torno do oócito (células tecais e granulosa); nos oócitos primários o citoplasma era basófilo, núcleo

volumoso com inúmeros nucléolos. Estas observações vão de acordo com o reportado por Garcia et al. (2001), Cabrita, Robles e Herráez (2009) e Prado et al. (2011).

Figura 11 – Cortes histológicos dos ovários de lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

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

Em relação aos machos, histologicamente foram observados em todos os tratamentos, diferentes estágios de desenvolvimento testicular (Figura - 12a, b, c, d, e, f, h, j). A estrutura testicular mostra alterações do epitélio germinativo, sendo possível visualizar duas partes (espermatogênica e a secretória). Na parte espermatogênica foram encontrados cistos com espermatogônias em diferentes estágios de crescimento delineadas por células de Sertoli, alguns túbulos seminíferos repletos de espermatozoides e outros não. Na porção secretória foi observado células que revestiam o lúmen do túbulo e evidenciavam formas colunares, cuboidais ou esquamosas (células de Sertoli modificadas) as quais eram circundadas por poucas células germinativas.

Figura 12 – Cortes histológicos dos testículos dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

T1- tratamento 1 (0% de DDGS), T2- tratamento 2 (10% de DDGS), T3- tratamento 3 (20% de DDGS), T4- tratamento 4 (30% de DDGS); PE- porção espermatogênica constituída de células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, PS- porção secretora contendo células germinativas dentro do

lúmen tubular; C- cistos com células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, LT- lúmen do túbulo seminífero cheio de espermatozoides, Esp- espermatozoides, seta- espermatogônia, (*)- espermátócito, cabeça da seta- espermátide, TI- tecido intersticial, CS- célula de sertoli, (**)- célula de sertoli modificada (formas colunares, cuboidais ou esquamosas), (***)- espermatozoides residuais rodeados de células de Sertoli.

Estes achados corroboram com o descrito por Costa et al. (2014), que defendem que o desenvolvimento testicular do lambari-de-rabo amarelo compreende 5 fases nomeadamente: fase de testículos regredidos (há maior incidência de células de Sertoli modificadas), fase inicial (o epitélio germinativo é formado por vários cistos com espermatogônias em diversos estágios de desenvolvimento), fase média (os túbulos seminíferos alongam-se e tornam-se descontínuos, poucas espermatogônias são encontradas na região basal do epitélio e poucos espermatozóides são visíveis no lúmen do túbulo seminal), fase final (os túbulos seminíferos apresentam um notável alargamento do tamanho, o epitélio germinativo descontínuo estende-se para a periferia do testículo e em alguns ou todos túbulos anastomosados, a quantidade da secreção aumenta no lúmen do túbulo) e fase regressiva (espermatogônias associadas a células de Sertoli encontram-se distribuídas no epitélio germinativo).

Na maioria dos peixes machos, os estágios de desenvolvimento testicular são encontrados em diferentes áreas do testículo, todavia no testículo de *A. Altiparanae* a última fase de desenvolvimento é encontrada no período de agosto a maio (COSTA et al., 2014), fato que foi constatado neste trabalho, pela incidência do estágio regressivo de alguns machos usados para a histologia.

No presente estudo foi observado que os machos do tratamento 4 (30% de DDGS) apresentavam muitos cistos de espermatogônias em vários estágios de desenvolvimento comparativamente aos outros tratamentos, dado comprovado pelo alto valor médio de concentração espermática ($7,9 \times 10^8 \pm 1,8 \times 10^8$) e o valor do índice gonadosomático (3,08%) obtido para este tratamento, fenômeno que pode ter sido influenciado pela dieta oferecida, pois esta apresentava energia bruta maior do que as outras dietas e provavelmente a energia digestível poderia ser maior (não foi feito o teste de digestibilidade de energia das dietas). O mesmo foi observado por Navarro et al. (2006) que dietas com níveis altos de energia digestível em rações para alevinos de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) intervêm no processo do desenvolvimento testicular, propiciando o aumento da quantidade de espermatogônias e a produção de cistos de espermatogônias primárias e secundárias, rodeadas de muitas células de Sertoli.

Tanto para as fêmeas assim como para os machos usados neste estudo seu desenvolvimento gonadal ocorreu normalmente e os resultados histológicos confirmam a integridade dos tecidos

reprodutivos. No entanto pode-se inferir que as dietas administradas com os diferentes níveis de DDGS não interferiram negativamente no desenvolvimento gonadal destes peixes.

4.5. Análise de viabilidade econômica

Tabela 10 - Custo relativo das dietas (R\$ Kg⁻¹) e custo do ganho (R\$ Kg⁻¹) dos lambaris-de-rabo-amarelo alimentados com diferentes níveis de DDGS (Grãos secos de destilaria com solúveis).

	Níveis de DDGS			
	T1	T2	T3	T4
Custo	0%	10%	20%	30%
Custo relativo da dieta (R\$.kg ⁻¹)	3,94	3,81	3,68	3,55
Custo do ganho (R\$. Kg ⁻¹)	4,69±0,21a	4,86±0,16a	4,74±0,39a	4,97±0,41a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não apresentam diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

A análise econômica das dietas revelou que, as dietas dos tratamentos 2, 3 e 4 foram 3%, 7% e 10% menos onerosas do que a dieta do tratamento 1 sem DDGS como mostra a Tabela 10. Do ponto de vista produtivo os peixes alimentados pela dieta 4 resultaram em custo do ganho maior (4,97±0,41) do que dos outros tratamentos (T1: 4,69±0,21) (T2: 4,86±0,16) e (T3: 4,74±0,39), apesar da dieta do tratamento 4 ser menos onerosa (3,55 R\$ /Kg), a eficiência produtiva e econômica foi igual, com as dietas com menos e sem DDGS ou seja, não foi verificada diferença entre as médias do custo do ganho entre os tratamentos (P > 0,05).

Esses resultados indicam que a produção eficiente e econômica dos lambaris poderá ser obtida pela alimentação dos peixes com dietas sem ou com menos farinha de soja em combinação com DDGS e o ganho de custo é igual, ou seja, dependendo da disponibilidade dos produtos no mercado pode-se optar por usar o DDGS ou a farinha de soja e quirera de arroz.

5. CONCLUSÕES

Dietas sem ou com até 20% de DDGS promoveram um bom desempenho produtivo, o que não aconteceu com a dieta contendo 30% de inclusão de DDGS cujo o desempenho teve tendência a diminuir.

A taxa de fertilidade inicial foi prejudicada com o aumento da inclusão do DDGS. Porém as restantes variáveis reprodutivas foram satisfatórias.

Do ponto de vista histológico, o DDGS não influenciou negativamente o desenvolvimento gonadal e a morfologia das gônadas das fêmeas e dos machos, todavia nos machos alimentados com a dieta de 30% apresentaram células espermáticas abundantes.

A eficiência econômica das dietas contendo o DDGS e as sem o DDGS foi similar. O DDGS pode ser usado como substituto da farinha de soja.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É imprescindível a realização de mais pesquisas, incluindo-se o DDGS nas dietas e aplicar em modelos comerciais como por exemplo: criação dos lambaris em tanques rede e fazer um estudo de viabilidade.

Faltam estudos sobre a inclusão de diferentes ingredientes alternativos e de níveis ideais de proteína bruta e energia digestíveis para reprodutores de lambari-de-rabo-amarelo.

7. 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, v. 37, n. 1, p. 31-38, 2011.
- ABO-STATE, H. A.; TAHOUN, A. M.; HAMMOUDA Y. A. Effect of replacement of soybean meal by DDGS combined with commercial phytase on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings growth performance and feed utilization. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, Dubai, n. 5, p. 473-479, 2009.
- AFZAL KHAN, M.; JAFRI, A. K.; CHADHA, N. K. Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, Chichester, v. 11 p. 11-17, 2005.
- ALVAREZ- LAJONCHERE, L. Nutrición de reproductores de peces marinos. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 8., 2006, León, Monterrey, México. **Anales...** León, México: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2006. P. 1-19.
- ARNDT, R. E. et al. Effects of heat treatment and substitution level on palatability and nutritional value of soy defatted flour in feeds for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 180, p. 129-145, 1999.
- ASLAKSEN, M. A. et al. Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, p. 541-555, 2007.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. **Official publication**. West Lafayette, IN, USA: Association of American Feed Control Officials, Inc., 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 17th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2000.
- AYADI, F. Y. et al. Twin-screw extrusion processing of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds using various levels of corn-based distillers dried grains with solubles (DDGS). **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 88, n. 4, p. 363-374, 2011.
- AYROZA, L. M. S. **Criação de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques-rede, na Usina Hidrelétrica de Chavantes, Rio Paranapanema, SP/PR**. 2009. 92 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.
- AZEVEDO, P. L. CANALE, L. A hipófise e sua ação nas gônadas dos peixes neotrópicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 9, p. 165-186, 1938.
- BAGENAL, T. The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta*. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 1, p. 167-182. 1996.

BALON, E. K. Reproductive guilds of fishes: A proposal and definition. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 32, p. 821-864, 1975.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - BNDES. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

BARNES, M. E.; BROWN, M. L.; ROSENTRATER, K. A. Juvenile rainbow trout responses to diets containing distillers dried grain with solubles, phytase, and amino acid supplements. **Open Journal of Animal Sciences**, Irvine, v. 2, n. 2, p. 69-77, 2012.

BARROS, M. M. et al. Níveis de vitamina C e ferro em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2149-2156, 2002.

BARROWS, F. T.; SEALEY, W. M. **Feed ingredients and the reduction of dependence on marine harvested products for aquaculture feeds**. 2014. Disponível em: <http://tidescanada.org/wp-content/uploads/2015/12/Barrows_Sealey_White_Paper_on_Feed_Ingredients.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015. p. 1-25.

BOMBARDELLI, R. A.; SYPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 9, p. 59-65, 2006.

BONISLAWSKA, M. et al. Fish egg size variability: biological significance. **Electronic Journal of Polish Agriculture Universities**, Poland, v. 4, n. 2, 2001. Disponível em: <<http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>>. Acesso em: 12 mar. 2016.

BOSCOLO, W. R. et al. Resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na forma de farinhas e silagem para a alimentação de lambari (*Astianax bimaculatus*). **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 10, n. 2, p. 189-195, abr./jun. 2012.

BOTHAST, R. J.; SCHLICHER, M. A. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 67, p. 19-25, 2005.

BRITO, C. Uso do DDGS, um subproduto na produção do etanol, na alimentação de monogástricos. **PoliNutri Alimentos**, Osasco, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.polinutri.com.br/upload/artigo/192.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

BROMAGE, N. R. et al. Egg quality in fish, Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 100, p. 141-166, 1992.

BROMAGE, N. R.; CUMARANATUNGA, R. Egg production in the rainbow trout. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R. (Eds.). **Recent advances in aquaculture**. London: Croom Helm, 1988. cap. 3, p. 63-138.

BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish and Fisheries**, Heidelberg, v. 7, p. 387-416, 1997.

BUOSI, J. P.; DIAN, P. H. M. Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) na alimentação de ruminantes. **Boletim Técnico da Universidade Camilo Castelo**, Descalvado, n. 11, 2014. 17 p.

CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRÁEZ, P. **Methods in reproductive aquaculture**: marine and freshwater species. Boca Raton: CRC Press, 2009. 577 p.

CAMPOS, C. M. et al. Avaliação econômica da criação de tilápia em tanque-rede, Município de Zacarias, SP. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 265-271. 2007.

CARVALHO, R. L. et al. Avaliação econômica da criação de lambari (*Astianax bimaculatus*) em tanques rede In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. 1 CD-ROM.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA – CEPEA. Tabela de preços. Piracicaba: CEPEA/ESALQ/USP, ano. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/>>. Acesso em: 7 fev. 2016.

CHENG, Z. J.; HARDY, R. H. Nutritional value of diets containing distiller's dried grain with solubles for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 15, p. 101-113. 2004a.

_____. Effects of microbial phytase supplementation in corn distiller's dried grains with solubles on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 15, p. 83-100, 2004b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília: Conab, 2014. v. 2. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 31 jan. 2016.

COSTA, F. G. et al. Testes of *Astyanax altiparanae*: the Sertoli cell functions in a semicystic spermatogenesis. **Micron**, Oxford, v. 61, p. 20-27, 2014.

COTAN, J. L. V. et al. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 634-640, 2006.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in fish biology and fisheries**, London v. 10, n. 1, p. 1-25, Mar. 2000.

COYLE, S. D. et al. Evaluation of growth feed utilization and economics of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 35, p. 365-370, 2004. 75

- COYLE, S. D.; NAJEEULLAH, T.; TIDWELL, J. A preliminary evaluation of naturally occurring organisms, distiller by-products, and prepared diets as food for juvenile freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 6, p. 57-66, 1996.
- DRUMMOND, C. D. et al. Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v. 287, n. 2, p. 176-182, 2000.
- DUARTE, C. M.; ALEARAZ, M. To produce many small or few large eggs: a size-independent reproductive tactic of fish. **Oecologia**, Heidelberg, v. 80, p. 401-404, 1989.
- EL-SAYED, A. F. M.; MANSOUR, C. R.; EZZAT, A. A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 220, n. 5, p. 619-632, 2003.
- EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein source for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1, p. 149-68, 1999.
- ERICKSON, G. E. et al. General overview of feeding corn milling co-products to beef cattle. In: NEBRASCA CORN BOARD. **Corn processing co-products manual**. Lincoln, NE, USA: University of Nebraska, 2005.
- ETHANOL GREEN FIELD. **Varenes plant: dried distiller grains with solubles (DDGS)**. 2013. Disponível em: < <http://www.gfsa.com/wp-content/uploads/2016/03/fmq-v-007e-fiche-technique-ddgs-varenes-english-22.0.0-10-Mars-2016.pdf> >. Acesso em: 10 mar. 2015.
- 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 (mestrado) - Instituto de Pesca, São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes.pg.php>>. Acesso em: 11 jan. 2016.
- FELIZARDO, V. O. et al. Effect of timing of hormonal induction 26 on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). **Theriogenology**, Philadelphia, v. 77, p. 1570-1574, 2012.
- FERNANDES JUNIOR, A. C. et al. Desempenho produtivo de tilápia do Nilo alimentada com níveis de colina na dieta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 163-167, 2010.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H. et al. Combined effect of dietary atocopherol and ny3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, p. 475-476, 1998.
- FERREIRA, P. M. F. et al. Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. **Journal of the Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 45, n. 1, p. 28-34, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO.
Oilcrops, oils and meals: trade and markets division food. Rome, Italy: FAO, 2015. 38 p.

_____. **The State of World Aquaculture and Fisheries 2014.** Rome, Italy: FAO, 2014. 223 p.

FURUYA, W. M. **Tabela brasileiras para nutrição da tilápia.** Toledo: GFM, 2010.

GAMEIRO, A. H. Análise económica aplicada a zootecnia: avanços e desafios. In: GOBESSO, A. A. O. et al. **Novos desafios de pesquisa em nutrição e produção animal.** Pirassununga: 5D, 2015. p. 15, 20-21.

GARCIA, J. A. D. et al. Dynamics and cytochemistry of oogenesis in *Astyanax fasciatus* (Cuvier) (Teleostei, Characiformes, Characidae) from RioSapucaf, Minas Gerais State, Brazil. **Revista brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 18, n. 4, p. 1057-1064, 2001.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS**, Série Zoologia, Porto Alegre, v.13, p. 65-88, 2000.

GARUTTI, V. Contribuição ao comportamento reprodutivo de *Astyanax bimaculatus* (*Ostariophysi Characidae*), em cursos de água da bacia do rio Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 49, p. 489-95, 1989.

GATESOUPÉ, F. J. Live yeasts in the gut: natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 20-30, 2007.

GATLIN III, D. M. Principles of fish nutrition. **SRAC Publication**, Piketon, n. 5003, p. 1-8, July. 2010.

GATLIN III, D. M. et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 38, p. 551-579, 2007.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-360, jul./set. 2007.

GOMES, C. C.; COSTA, F. G.; BORELLA, M. I. Distribution of GnRH in the brain of the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000). **Micron**, Oxford, v. 52, n. 53, p. 33-38, 2013.

GONÇALVES, L. U. et al. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 45, p. 195-203, 2014.

HAYASHI, C. et al. Frequência de arraçoamento para alevinos de lambari do rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 21-26, 2004.

HAYASKI, C. et al. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: SBZ, 1999.

HERTRAMPF, J. W.; PIEDAD-PASCUAL, F. **Handbook on ingredients for aquaculture feeds**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 115-124.

HOFFMAN, R. **Estatística para economistas**. 4. ed. rev. ampl. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006. p. 309-320.

ÍNDICE NACIONAL DE PREÇOS AO CONSUMIDOR – INPC. **O que compõe o INPC/IBGE**. Disponível em:<<http://www.portalbrasil.net/inpc.htm>>. Acesso em: 7 fev. 2016.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA – IEA. **Banco de dados**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/bancodedados.html>>. Acesso em: 7 fev. 2016.

IZQUIERDO, M. S.; FERNÁNDEZ-PALÁCIO, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nuutritión on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1-4, p. 25-42, 2001.

KIM, E. J. et al. et al. Phosphorus bioavailability true metabolizable energy and aminoacid digestibilities of high protein corn didtiller’s dried grains and dehydrated corn germ. **Poultry Science**, Cary, v. 87, p. 700-705, 2008.

KOPEIKA, E.; KOPEIKA, J. Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. In: ALAVI, S. N. H. et al. (Ed.). **Fish spermatology**. Oxford, UK: Alpha Science International, 2008. p. 347-397.

KUBITZA, F. Ajustes na nutrição e alimentação das tilápias. **Panorama de Aquicultura**, Rio de Janeiro, p. 15-16, nov./dez. 2006.

LEE, K. J. et al. Longterm effects of dietary cottonseed meal on growth and reproductive performance of rainbow trout: three-year study. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 126, p. 93-106, 2006.

LI, E. et al. Growth response and resistance to *Streptococcus iniae* of nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets containing diferente levels of wheat distillar’s dried grains with solubles with or without lysine supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 170, p. 246-255, 2011.

LI, M. H. et al. Effects of various corn distillers by-products on growth, feed efficiency and body composition of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture Nutrition**, Chichester, p. 188-193, 2010.

LIM, C. et al. Growth response and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing distiller’s dried grains with solubles. **Journal of the World Aquaculture Society**, Hoboken, v. 38 p. 231-237, 2007.

LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIUS, P. H. Growth response and resistance to *Edwardsiella ictaluri* of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing distiller's dried grains with solubles. **Journal of the World Aquaculture Society**, Hoboken, v. 40, p. 182-193, 2009.

LIM, C. E. et al. Growth response and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing distillers dried grains with solubles. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE IN BOCA DEL RIO, 7., 2006, Veracruz, México. **Proceedings...** Veracruz, México, 2006. p. 387-387.

MATAVELI, M. et al. Qualidade do sêmen em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C, **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 345-349, 2010.

METCOFF, J. Intracellular amino acid levels as predictors of protein synthesis. **Journal of the American College of Nutrition**, Philadelphia, v. 5, p. 107-120, 1986.

MEURER, F. et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilapia de Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 1835-1840, 2005.

MILANEZ, A. Y. et al. A produção de etanol pela integração de milho-safrinha às usinas de cana-de-açúcar: avaliação ambiental, econômica e sugestões de política. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 41, p. 147-208, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Assessoria de gestão estratégica Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. Brasília, abr. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20%282%29%281%29.pdf>. Acesso: 31 jan. 2016.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce**: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: Eduem, 2001. 378 p.

NASCIMENTO, N. F. **Desempenho zootécnico e caracterização da linhagem germinativa de peixes diploides e triploides de lambari (*Astyanax altiparanae*)**. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2015. Disponível em: <<http://www.caunesp.unesp.br/#!/pos-graduacao/dissertacoes/>>. Acesso em: 30 dez. 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2011. p. 3, 9-10.

NAVARRO, M. P. et al. An analysis of our experience in cryopreservation of 78 semen from cancer patients. **Actas Urológicas Española**, Madrid, v. 1, n. 34. p. 101-105. 2010.

NAVARRO, R. D. et al. Níveis de energia digestível na dieta de piaçu no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 24, p. 153-163, 2006.

NAVAS, J. et al. The effect of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 5., 1995, Austin, Texas. **Proceedings...** Austin, Texas, USA: Fish Symposium, 1995. p. 108-110.

OLIVEIRA, M. M. **Dietas para reprodutores de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2012. 96 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012. p 96, 2012.

OVERLANDA, M. et al. Evaluation of distiller's dried grains with solubles (DDGS) and high protein distiller's dried grains (HPDDG) in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) **Aquaculture**, Amsterdam, v. 416, n. 417 p. 201-208, 2013.

PAULINO, M. S. et al. O. Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de busserelina. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 37, p. 39-45, 2011.

PENZ JÚNIOR, A. M. P.; GIANFELICE, M. O que fazer para substituir os insumos que podem migrar para a produção de bio-combustível. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, p. 107-117, 2008.

PEREIRA, T. G.; OLIVA-TELES, A. Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) juveniles. **Aquaculture Research**, Chichester, v. 34, p. 1111-1117, 2003.

PEREIRA, T. S. **Suplementação de selênio orgânico em dietas de reprodutores de Tilápia-Do-Nilo (*Oreochromis Niloticus*)**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PORTO-FORESTI, F. et al. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria, RS: Editora UFSM, 2005. v. 1, p. 101-115.

PRADO, P. S. et al. Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Maryland Heights, v. 74, p. 1879-1887, 2011.

PUPULIN, C. Cenários da produção de etanol de milho no Brasil. **Canal Jornal da Bioenergia**, Goiânia, jan. 2016. Disponível em: <<http://www.canalbioenergia.com.br/etanol-de-cana-e-de-milho-diferencas-importantes-mas-convergencia-parece-ser-uma-tendencia/>>. Acesso em: 19 abr. 2016.

RABOBANK. **Perspectivas para o agronegócio brasileiro em 2015**. Disponível em: <http://www.rabobank.com.br/pt/content/sobre_o_rabobank/sala_de_imprensa/2015/perspectivas_2015.html>. Acesso em: 20 jan. 2016.

RAHMA, M. M.; CHOI, J.; LEE, S. Use of distillers dried grain as partial replacement of wheat flour and corn gluten meal in the diet of juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Trabzon, v.13, p. 699-706, 2013.

RANA, K. J.; SIRIWARDENA, S.; HASAN, M. R. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, Rome, FAO, n. 541, 2009. 63 p.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. **Fueling a nation**: feeding the world: the role of ethanol industry in food and feed production. 2011. Disponível em: <www.EthanolRFA.org p. 1-10>. Acesso em: 20 jan. 2016.

ROBINSON, E.; LI, M. H. Summary of distillers grains studies for pond-raised catfish. **Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station**, Mississippi, v. 24, n. 11, 2012. 8 p.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H. Replacement of soybean meal in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diets with cottonseed meal and distiller's dried grains with solubles. **Journal of the World Aquaculture Society**, Hoboken, v. 39, p. 521-527, 2008.

ROCHA, M. A. et al. Comparações entre famílias de meio irmãos paterno através do fator de condição de Fulton, alométrico e a taxa de crescimento em curimatá (*Prochilodus lineatus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 947-954, out./dez. 2008.

RODRIGUES, A. M. et al. Tipo de desova e fecundidade do tambuí *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Pisces, Characiformes, Characidae), na Represa de Ibatinga, Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 309-15, 1992.

ROLA, W. R.; HASAN, M. R. Economics of aquaculture feeding practices: a synthesis of case studies undertaken in six Asian countries. In: HASAN, M. R. (Ed.). **Economics of aquaculture feeding practices in selected Asian countries**. Rome, FAO, 2007. p. 1-31.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H. M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg 1895), induced to spawn. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 86, p. 105-110, 1990.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos, composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa: UFV/DZO, 2011. 252 p.

ROYCE, W. F. **Introduction to the fishery science**. New York: Academic Press, 1972.

RURANGWA, E. et al. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, n. 1-4, p. 1-28, 2004.

RURANGWA, E. et al. Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using computer assisted system sperm analysis (CASA), viable staining and standardizing fertilization in African catfish (*Clarias gariepinus*). **Theriogenology**, Philadelphia, v. 55, p. 751-769, 2001.

SALARO, A. L. et al. Avanços na nutrição e produção de lambaris. In: TAVARES-DIAS, M.; MARIANO, W. S. (org.). **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. São Carlos: Editora Pedro & João, 2015. v. 2, cap. 23, p. 491-502.

SAMPAIO, A. M. B.; KUBITZA, F.; CYRINO, J. P. F. Relação de energia: proteína na nutrição de tucunaré. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 213-219, 2000.

SANCHES, E. A. et al. Parâmetros de motilidade espermática de *Rhamdia Quelen* avaliados entre 10 e 14 segundos pós-ativação. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PESCA, 2.; SEMANA ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE PESCA, 12., 2010, Toledo, Paraná. **Anais...** Toledo, Paraná, 2010. 1 CD-ROM.

SANCHES, E. A. et al. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 1163-1167, 2011.

SANTOS, F. W. B. Nutrição de peixes de água doce: definições, perspectivas e avanços científicos. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2012, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2012. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/anais/anaisb/aa24_2.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015.36

SANTOS, G. B.; BARROS, L. N. V.; MENEZES, M. U. Fecundity of the *Astyanax bimaculatus* (Reinhardt, 1874) (Teleostei, Characidae) from Upper Rio São Francisco basin, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, supl. 1, p. 101-108, 1996.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H. P. Reprodução induzida de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. (Eds.). **Águas e peixes no São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. p. 275-290.

SCHAEFFER, T. W. et al. Utilization of diets containing graded levels of ethanol production co-products by Nile tilapia. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 94, n. 6, p. e348-54, 2010.

SHI, Z. et al. The influence of distillers dried grains with solubles during gestation on sow productivity and milk composition. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 13, p. 3178, 2014.

SHURSON, J. Dried Distillers Grains with Solubles (DDGS): a new alternative ingredient in aquafeeds. **World Aquaculture**, Louisiana, p. 54-58, set. 2012.

SILVA, J. M. A. et al. Características seminais e índices reprodutivos de curimba (*Prochilodus lineatus*) em diferentes períodos reprodutivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 10, p. 668-677, 2009.

SPIEHS, M. J.; WHITNEY, M. H.; SHURSON, G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2639-2645, 2002.

STEIN, H. H. Distillers dried grains with solubles (DDGS) in diets fed to swine. **HHS-SwineFocus**, Champaign, n. 001, p. 1-8, 2007,

STEIN, H. H; SHURSON, G. C. The use and application of distillers dried grains with solubles in swine diets. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 1292-1303, 2009.

STONE, D. A. J. et al. Effects of extrusion on nutritional value of diets containing corn gluten meal and corn distiller's dried grain for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 17, p. 1-20, 2005.

SUSSEL, F. R. Cultivo de espécies emergentes: Lambari. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE AQUICULTURA INTERIOR, 2015, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2015. 43 p.

SUSSEL, F. R. et al. Replacement of animal protein with vegetable protein in the diets of *Astyanax altiparanae*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 36, n. 4, p. 343-348, Out./Dez. 2014.

TIDWELL, J. H. et al. Growth, survival, and body composition of cage cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed pelleted and unpelleted distillers grains with solubles in polyculture with freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Hoboken, v. 31, p. 627-631, 2000.

TIDWELL, J. H. et al. Evaluation of distillers dried grains with solubles as an ingredient in diets for pond culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Hoboken, v. 24, p. 66-70, 1993a.

TIDWELL, J. H. et al. Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and distiller's by-products in diets for pond culture of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 118, p. 119-130, 1993b.

U.S. GRAINS COUNCIL. **A guide to Distillers Dried Grains with solubles (DDGS)**. 3th ed. Washington: U.S. GRAINS COUNCIL, 2008.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Núcleo de Pesquisas em Limnologia Ictiologia e Aquicultura, 1996. 169 p.

VILELA, C.; HAYASHI, C. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 23, p. 491-496, 2001.

VIVEIROS, A. T. M. Criopreservação de sêmen de peixes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2005. 1 CD-ROM.

WEBSTER, C. D. et al. Growth, body composition, and organoleptic evaluation of channel catfish fed diets containing different percentages of distiller's grains with solubles. **Progressive Fish-Culturist**, New York, v. 55, p. 95-100, 1993.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. The artificial propagation of warm-water finfishes-manual of extensions. **FAO, Fisheries Technical Paper**, Rome, p. 1-183, 1980.

WU, Y. V. et al. Utilization of protein-rich ethanol co-products from corn in tilapia feed. **Journal of American Oil Chemists Society**, Heidelberg, v. 71, p. 1041-1043, 1994.

WU, Y. V.; ROSATI, R. R.; BROWN, P. B. Effect of diets containing various levels of protein and ethanol coproducts from corn on growth of tilapia fry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 44 p. 1491-1493, 1996.

WU, Y. V.; ROSATI, R. R.; BROWN, P. B. Use of corn-derived ethanol coproducts and synthetic lysine and tryptophan for growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 45, p. 2174-2177, 1997. 83

YASUI, G. S. et al. Improvement of gamete quality and its sperm storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal**, Cambridge, v. 9, n. 3, p. 467-470, 2015.

ZHOU, P. et al. Growth response and feed utilization of juvenile hybrid catfish fed diets containing distiller's grains with solubles to replace a combination of soybean meal and corn meal. **North American Journal of Aquaculture**, New York, v. 72, p. 298-303, 2010.