UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LIGIA URIBE GONÇALVES

Lipídios e ácidos graxos nos desempenhos reprodutivo e zootécnico de
lambaris (*Astyanax altiparanae*)

Pirassununga

2010

LIGIA URIBE GONÇALVES

**Lipídios e ácidos graxos nos desempenhos reprodutivo e zootécnico de lambaris
(*Astyanax altiparanae*)**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof^a Dr^a Elisabete Maria Macedo Viegas

Pirassununga

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

G635L Gonçalves, Ligia Uribe
Lipídios e ácidos graxos nos desempenhos reprodutivo
e zootécnico de lambaris (*Astyanax altiparanae*) / Ligia
Uribe Gonçalves. -- Pirassununga, 2010.
117 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo
Viegas.

1. Ácido docosahexaenóico 2. Ácido eicosapentaenóico
3. Lambari selvagem 4. Óleo de salmão 5. Óleo de soja
6. Óleo de tilápia. I. Título.

*Aos meus pais, José Maria Gonçalves Costa e Lídia Uribe Gonçalves, pela
educação, amor e por não terem medido esforços para me darem tudo o
que precisei. Amo vocês!*

*Ao meu tio Aderson do Prado Costa (in memoriam) que se estivesse entre
nós estaria orgulhoso me aplaudindo nesse momento. Saudades...*

Dedico

*Ao meu amado, Everton Amaral Berton, por sempre me incentivar,
ouvir e estar ao meu lado independente das minhas decisões.*

Te amo Chû.

Ofereço

A orientadora, Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas, por ser um exemplo profissional de competência, determinação e honestidade. Por ter acreditado na minha capacidade e por ter me dado tantas oportunidades. Agradeço não somente pelos ensinamentos científicos, mas pelos conselhos, pela amizade e cumplicidade nesses 9 anos de convivência. Muito obrigada!

Agradecimento Especial

Agradecimentos

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento desse trabalho e bolsa de estudos concedida

A Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela formação e disponibilização da infra-estrutura necessária para realização desse trabalho

A Profa. Dra. Giuliana Parisi por ter aberto as portas da Università degli Studi di Firenze e por ter me acolhido tão bem com toda paciência com meu italiano. Por ter me orientado nos estudos desenvolvidos na Itália que tanto colaboraram para minha formação profissional. La ringrazio di cuore!

Ao funcionário do Laboratório de Aquicultura da FZEA José Apolinário Ferraz pela amizade, ensinamentos e toda ajuda nesses anos que conturbei a piscicultura. Valeu Polis!

Ao funcionário da UNIFI Antonio Bonelli “Tonino”, pela amizade e por ter sido tão prestativo e atencioso, por ter me ensinado as análises de ácidos graxos com toda precisão do mundo. Grazie Mille, Toni!

A empresa Supremais pelo fornecimento do premix mineral e vitamínico utilizado nas dietas experimentais

A empresa Damm Products pelo fornecimento do óleo de resíduos de salmão

A empresa Tilápia do Brasil pelo fornecimento das carcaças de tilápia do Nilo

A empresa Poytara pela extrusão das dietas experimentais

Ao Dr. José Senhorini e equipe pelo fornecimento dos lambaris para execução dos experimentos iniciais

A Profa. Dra. Elizabeth Romagosa pelos ensinamentos para execução da parte experimental de reprodução e por ser sempre tão carinhosa e prestativa

Ao funcionário do Laboratório de Histologia da FZEA, Nilton Pedro dos Santos, por todo ensinamento e auxílio para confecção das lâminas histológicas

Ao Prof. Dr. Marcus Antônio Zanetti por ter prontamente aceito ser meu “orientador substituto” perante a FAPESP quando a Profa. Elisabete estava no exterior

Ao Professor Dr. Paulo José do Amaral Sobral e funcionária Ana Mônica Quinta Barbosa Bittante por permitir e auxiliar a utilização da centrífuga e liofilizador

A Prof. Dra. Carmem Sílvia Fávaro Trindade e o funcionário Marcelo Thomazini por permitir e auxiliar a utilização do liofilizador

Aos membros da banca do exame de qualificação Profa. Dra. Elizabeth Romagosa e Profa. Judite Lapa Guimarães pelas correções, críticas e sugestões valiosas para finalização desse humilde trabalho

Aos membros da banca de defesa de tese, Prof. Dr Luiz Edvaldo Pezzato, Profa Dra Elizabeth Romagosa, Profa Dra Ana Lúcia Salaro, Profa Dra Judite Lapa Guimarães, por terem aceito prontamente o convite de participação dessa banca, concederem seus tempos preciosos na correção e por todas as sugestões que serão essenciais para a publicação desse estudo

As secretárias da Pós-Graduação Conceição Roldão e Layla Denófrio pelo trabalho dedicado e atendimento de qualidade aos alunos de pós-graduação

Ao bibliotecário Girlei Aparecido de Lima pelas correções das referências bibliográficas

Aos alunos de Iniciação científica Felipe Ferrolí "Tortu" e Daflin Fernanda de Mello, pessoas especiais que foram essenciais na execução desse trabalho. Agradeço por toda ajuda, paciência, amizade e risadas que demos juntos!

Ao estagiário e amigo Frederico Tomiita JÚNIOR "Meketrefe", por ser uma ótima companhia: no trabalho, para jogar conversar fora, para ouvir e dar muitas risadas! HÃ!

Aos estagiários da Piscicultura da FZEA que ajudaram em diferentes etapas desse trabalho (Nayra Suahyli "Mãezoon", Eduardo Uchida "Xavasca", André Hiroshi "Gambá", Mariene Natori "Bitoca"; Rodrigo Leme "Bisteca", Raissa Cavalcante "Bicuda" e Laura), muito obrigada!

Aos pós-graduandos da piscicultura da FZEA André Watanabe "Pêsquero", Peter Kirschnik, Paulo de Oliveira, Mariene Natori "Bitoca", Sheyla Vargas, Elaine dos Santos, Fábio Sussef, Maria Angélica

As amigas Aline Zampar, Márcia Sakamoto e Juliana Cruz que sempre acompanharam de lado e de longe todos meus tropeços e minhas realizações, por me ouvirem e torcerem por mim a cada desafio! Vocês estão no meu coração!

Aos amigos de velha data Thiago Previero “Fronha”, Ricardo Hotta “Fímus”, Celso Kawabata “Teco” por toda ajuda na pós-graduação, pela convivência, amizade e conselhos! Valeu caras!

Aos amigos italianos Maura Bonsignori, Elisa Ramires, Glenda Frantini, Gianluca Giorgi, Davide de Petris, Roberta Martelli, Leonardo Barsalini por terem me acolhido com tanto carinho. Mi mancavate!

Aos amigos de FZEA: de repúblicas e alojamento (Aline, Mícosé, Marina, Cristina, Ana Laís, Kika, Roselaine, Andréa, Sueli, Cá, Fronha, Fímus, Tschorny), do GMA (Cucco, Preto, Minos, Roulber, Rachel, Spin, Prof. Bento, Eli, Marina, Pri, Prof. Júlio, Luis), da avicultura (Vanessa, Karina, Raquel), aos funcionários (Delaine, Wagner, Tadeu, Clélia), da pós (Agostinho, Felipe, Boi, Cupim, Eva, Taíssa, Estela, Thaís Roberta, Ludmíla, Assado, Stella, Chilena), aos bixos queridos (Cá, Xota, Meketrefe, Baiacu e Bafo) e todos os outros que por ventura eu possa ter esquecido.

E por último e não menos importante:

Aos meus pais, José Maria Gonçalves Costa e Lídia Uribe Gonçalves

Ao meu tio Aderson do Prado Costa (in memorian)

Aos meus irmãos, Emílio Gonçalves Costa Neto e Stephanie Uribe Gonçalves e minha cunhada, Suênia Maria de Almeida Costa

A família do Everton: Maria de Lourdes Berton, Luiz Berton (in memorian), Olívia Medeiros (in memorian), Maria do Carmo “Tata”, Eduardo Berton e Juliana Orlando

As famílias Costa, Okama, Bianchi e Ortin

Aos amigos de infância, colégio e graduação

Obrigada por todo apoio e por terem vibrado a cada conquista!

“A persistência é o caminho do êxito”

Charles Chaplin

RESUMO

GONÇALVES, L.U. **Lipídios e ácidos graxos nos desempenhos reprodutivo e zootécnico de lambaris (*Astyanax altiparanae*)**. 2010. 117p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Três experimentos foram conduzidos para determinar o efeito de fontes lipídicas nos desempenhos reprodutivo e zootécnico de lambaris e a comparação no perfil de ácidos graxos nos tecidos de lambaris selvagens e de cativeiro. Para o experimento de reprodução e de crescimento foram fornecidas, desde a fase larval até o período reprodutivo (11 meses), três dietas elaboradas com diferentes fontes de óleo: soja (SO); óleo de resíduos de tilápia (TI); óleo de resíduo de salmão (SA). No período reprodutivo, os peixes (36 fêmeas e 72 machos) foram induzidos à desova artificialmente e foram avaliados os parâmetros reprodutivos (volume e número total de ovos, taxas de fertilização e eclosão, diâmetro do ovo e comprimento da larva), bem como, o acompanhamento da regeneração ovocitária pós-desova. Observaram-se ovos e larvas maiores e taxas de fertilização superiores na progênie dos peixes alimentados com dietas contendo óleo de peixe, o que pode estar relacionado aos maiores valores da relação n-3/n-6 encontrados nos ovos. Para o experimento de desempenho zootécnico foram utilizados 192 lambaris sexados (espículas na nadadeira anal do macho), sendo 120 machos (peso médio $2,58 \pm 0,13\text{g}$) e 72 fêmeas (peso médio $4,00 \pm 0,09\text{g}$). O Delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado em Esquema Fatorial 3 x 2, composto por três dietas (SO, TI, SA) e dois sexos. Verificou-se que as fêmeas apresentaram maior ganho em peso, taxas de conversão alimentar e taxa de eficiência protéica mais satisfatórias quando comparados com os machos, os quais apresentaram maior sobrevivência no final do experimento, independente da dieta fornecida. Para o terceiro experimento foram coletados 30 lambaris fêmeas selvagens e 30 fêmeas provenientes do cultivo. Extraíram-se os lipídios dos tecidos (músculo, ovários e fígado) de cada grupo, os quais foram separados (fases apolar e polar) e determinados os perfis de ácidos graxos. Os resultados foram submetidos a ANOVA e diferenciados pelo

teste F. Os lambaris de ambos os grupos apresentaram em média $3,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de teor de gordura no músculo. Os ovários dos peixes selvagens apresentaram a maior concentração de lipídios ($14,447\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) quando comparados com os de cativeiro ($13,181\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$). A dieta não conseguiu suprir a quantidade mínima de importantes ácidos graxos no lipídio total e frações dos tecidos das fêmeas provenientes do cultivo em relação às selvagens. O ácido linolênico, considerado essencial para peixes de água doce, esteve presente em menores quantidades no lipídio total e nas frações polar e apolar nos tecidos dos lambaris cultivados, o que pode estar relacionado com deficiência em dietas comerciais para peixes onívoros. Com base nos resultados observados nos experimentos de reprodução e desempenho, sugere-se a inclusão de óleo de resíduos de tilápia e salmão na ração de peixes de lambaris. Ainda foi observado que os lambaris são capazes de elongar e dessaturar os ácidos graxos com 18 carbonos na cadeia, para a produção de Ácidos Araquidônico (AA), Eicosapentaenóico (EPA) e Docosaheptaenóico (DHA), devido às baixas quantidades desses ácidos graxos na dieta e posterior aumento nos tecidos.

Palavras-chave: ácido docosaheptaenóico, ácido eicosapentaenóico, lambari selvagem, óleo de salmão, óleo de soja, óleo de tilápia

ABSTRACT

GONÇALVES, L.U. **Lipids and fatty acids in growth and reproductive performance of lambari (*Astyanax altiparanae*)**. 2010. 117f. PhD. Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Three trials were conducted to determine the effect of lipid sources on lambari reproductive and growth performances as well as to make the comparison in the fatty acid profiles in tissues of lambari wild and captive. For the reproduction and growth performances were provided since the larval stage until the reproductive period (11 months), three diets containing different sources of oil: soybean oil (SO); tilapia waste oil (IT); salmon waste oil (SA). During the reproductive period, fish (36 females and 72 males) were artificially induced to spawn and the reproduction parameters (volume and total number of eggs, fertilization and hatching rates, egg diameter and larval length) were evaluated, as well as monitoring of oocyte regeneration post-spawning. It were observed larger eggs and larvae and higher fertilization rate in the progeny of fish fed diets containing fish oil, which may be related to higher n-3/n-6 ratio values found in the eggs. For the trial of growth performance were used 192 sexed lambaris (male anal fin spines) with 120 males (mean weight $2.58 \pm 0.13\text{g}$) and 72 females (mean weight $4.00 \pm 0.09\text{g}$). The fish were separated on a random method in a factorial scheme 3×2 , composed by three diets (SO, TI e SA) and two sexes. It was verified that females had higher weight gain, improved feed conversion and protein efficiency rates than males, which showed higher survival at the end of the trial, regardless of diet. In the third trial were collected 30 wild and 30 captive females. The lipids of tissues (muscle, liver and ovary) were extracted from each group and were separated (polar and non polar) and thus determined the fatty acids profiles. The results were analyzed by ANOVA and F test. The lambaris of both groups had mean of $3.5\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ in the muscle and the wild fish ovaries showed the highest concentration of lipids ($14.447\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) than farming fish ($13.181 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). The diet failed to supply the minimum amount of important fatty acids in fractions and total lipids of cultivate females and these evidences were higher in the ovaries. Linolenic acid which is considered essential for freshwater fish, was present

in smaller amounts in total lipids and polar and nonpolar fractions in all tissues of the cultivated lambari, which may be related to default in commercial diets for omnivores fish. In view of parameters observed in reproduction and growth trials, it can be suggest the inclusion of waste tilapia and salmon oil in lambari broodstock diet. Also it was observed that lambaris have the capacity elongation and desaturation of fatty acids with 18 carbons in the chain for the Arachidonic Acid (AA), Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA) production due to low amount of these fatty acids in the diet and the increase in the tissues.

Key-words: docosahexaenoic acid, eicosapentaenoic acid, salmon oil, soybean oil, tilapia oil, wild lambari

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura molecular de um triacilglicerol (Fonte: SARGENT; TOCHER; BELL, 2002)	21
Figura 2. Via de alongamento e dessaturação dos ácidos graxos linoléico (C18:2n-6) e linolênico (C18:3n-3) (Fonte: TURCHINI, FRANCIS; DE SILVA, 2006)	23
Figura 3. Tanques experimentais utilizados no experimento de reprodução no Laboratório de Aquicultura da FZEA/USP	44
Figura 4. Aplicação hormonal (hipófise de carpa) na inserção da nadadeira peitoral sentido caudal	44
Figura 5. Dissecção e retirada dos ovários	47
Figura 6. Coleta de lambaris selvagens com tarrafa no Rio Mogi Guaçu, Cachoeira de Emas, Pirassununga/SP	49
Figura 7. Dissecção do lambari para coleta de tecidos	50
Figura 8. Amostras de ovários (A) e fígado (B) de <i>Astyanax altiparanae</i>	50
Figura 9. Resíduos de tilápia do Nilo após centrifugação, a: fase viscosa (óleo); b: fase aquosa (sangue e água); c: fase sólida (resíduos)	54
Figura 10. Ovo de lambari (aumento 80X sob esteromicroscópio ZEISS), oito horas após a desova	59
Figura 11. Frequência (%) dos diâmetros dos ovos de lambari. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão	62
Figura 12. Larva de lambari recém eclodida sem pigmentação, com trato gastrointestinal fechado e grande reserva vitelínica	63
Figura 13. Frequência (%) dos comprimentos das larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão	64
Figura 14. Concentração total de ácidos graxos n-3 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes	

nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....	67
Figura 15. Concentração total de ácidos graxos n-6 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....	68
Figura 16. Relação n-3/n-6 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....	69
Figura 17. Concentração de EPA no músculo das reprodutoras, ovos e larvas SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....	70
Figura 18. Concentração de DHA no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....	71
Figura 19. Ovários de <i>Astyanax altiparanae</i> destacando duas lamelas ovulíferas, representadas pelos asteriscos, nas quais se encontram ovócitos de diferentes estádios de desenvolvimento (aumento 50x).....	77
Figura 20. Cortes histológicos dos ovários de lambari, evidenciando diferentes fases de desenvolvimento ovocitário. A: ovócitos jovens (OV1) com citoplasma fortemente basófilo, núcleo esférico com nucléolos dispersos na periferia do núcleo; B: ovócitos pré-vitelogênicos com nítida visualização da zona radiata (ZR) coberta externamente por uma camada de células foliculares (CF); C:	

ovócitos com vesículas corticais (VC); D: ovócitos vitelogênicos com citoplasma acidófilo (A, B ,C e D: aumento de 100X).....77

Figura 21. Desenvolvimentos ovarianos observados em *Atyanax altiparanae* no dia da desova e 60 dias após desova. maturação inicial. A: ovários em maturação inicial; B: corte histológico do ovário em maturação inicial, com ovócitos de todos os tipos de desenvolvimento; C: ovários em maturação final; D: corte histológico do ovário em maturação final repleto de ovócitos vitelogênicos; E: ovários desovados; F: corte histológico do ovário após a desova evidenciando os folículos pós-ovulatórios (asteriscos); G: ovários em regressão; H: corte histológico do ovário em regressão repleto de células jovens e presença de ovócitos vitelogênicos em atresia (setas). (B, D, F, H: aumento de 100X)78

Figura 22. Reprodutoras de lambari utilizadas para o cálculo do IGS no momento da desova e os respectivos cortes histológicos dos ovários. A e B: tratamento com óleo de soja; C e D: tratamento com óleo de tilápia; E e F: tratamento com óleo de soja (B, D e F: aumento de 50X).....81

Figura 23. Cortes histológicos dos ovários após a desova, caracterizados pela presença de folículos pós-ovulatórios (setas). A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão; setas representam os folículos pós-ovulatórios (A, B e C: aumento de 50X)82

Figura 24. Cortes histológicos dos ovários 20 dias após a desova evidenciando o estágio de maturação inicial. A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão (A, B e C: aumento de 50X).....83

Figura 25. Cortes histológicos dos ovários 60 dias após a desova. A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão (A, B e C: aumento de 50X)85

Figura 26. Índice Gonadossomático (%) dos tratamentos durante 60 dias. Letras diferentes no dia de amostragem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).....85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios da composição centesimal dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais	39
Tabela 2. Formulação e valores médios para a composição centesimal das dietas experimentais fareladas na fase de larval (Experimento 1)	41
Tabela 3. Formulação e valores médios da composição centesimal das dietas experimentais extrusadas para as fases em crescimento (Experimento 1) e reprodução (Experimento 2)	42
Tabela 4. Valores médios de índice de peróxidos e acidez dos óleos experimentais	55
Tabela 5. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) dos perfis em ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais	19
Tabela 6. Valores médios dos parâmetros reprodutivos de lambaris	60
Tabela 7. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do perfil em ácidos graxos do músculo das reprodutoras, ovos e larvas de lambari	66
Tabela 8. Valores médios do número de ovócitos por grama de ovários, número total de ovócitos por grama de fêmea, número de total de ovócitos, calculados no momento da desova	79
Tabela 9. Valores médios de índices zootécnicos de lambaris após 60 dias de experimento	88
Tabela 10. Valores médios de composição centesimal corporal dos lambaris fêmeas e machos	89
Tabela 11. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do perfil de ácidos graxos do músculo dos machos e fêmeas de lambari	93
Tabela 12. Valores médios de peso total, peso dos ovários, peso do fígado, IGS e IHS de lambaris selvagens e de cativeiro	94
Tabela 13. Valores médios do perfil em ácidos graxos ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) da ração fornecida para os lambaris criados em cativeiro	96

Tabela 14. Valores médios do perfil em ácidos graxos ($\text{g} \cdot 100^{-1} \text{g}$) presentes no lipídio total, frações neutra e polar do músculo de lambaris de cativeiro e selvagem	97
Tabela 15. Valores médios ($\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) do perfil de ácidos graxos presentes no lipídio total, frações neutra e polar dos ovários de lambaris de cativeiro e selvagem	99
Tabela 16. Valores médios ($\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) do perfil em ácidos graxos presentes no lipídio total, frações neutra e polar do fígado de lambaris de cativeiro e selvagem	101

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	11
LISTA DE TABELAS	14
SUMÁRIO	16
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. Lipídios e ácidos graxos	20
2.2. Lipídios em dietas para peixes	23
2.3. Lipídios e reprodução de peixes	29
2.4. Lambari	33
3. OBJETIVOS GERAIS	35
3.2. Objetivos Específicos	35
3.3. Hipóteses	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1. Obtenção da matéria-prima e óleo de peixe e suas caracterizações.....	37
4.1.2. Análises químicas	37
4.1.2.1. Rendimento (%)	37
4.1.2.2. Índices de qualidade.....	37
4.1.2.3. Composição de Ácidos Graxos por cromatografia gasosa.....	38
4.2. Dietas experimentais (Experimentos 1 e 2)	38
4.3. Experimento 1: Desempenho Reprodutivo	43
4.3.1. Preparação dos reprodutores	43
4.4. Experimento 2: Desempenho em crescimento	47
4.5. Experimento 3: Selvagem x Cativo.....	49
4.6. Delineamento experimental e análises estatísticas	52
4.6.1. Experimento 1	52

4.6.2. Experimento 2	52
4.6.3. Experimento 3	53
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1. Óleos	54
5.2. Perfil de ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais.....	55
5.3. Experimento 1: Desempenho Reprodutivo	58
5.3.1. Estudo da Fêmea na desova e após desova.....	74
5.4. Experimento 2.: Desempenho em Crescimento	86
5.5. Experimento 3: Comparação entre lambaris selvagens e de cativeiro.....	94
6. CONCLUSÕES	105
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

1. INTRODUÇÃO

A captura de pescado está estagnada e tende a declinar nos próximos anos, ao contrário da aquicultura que se encontra em plena expansão. No Brasil observa-se o crescimento da produção aquícola a cada ano, com grandes expectativas de desenvolvimento do setor. Conseqüentemente, com o aumento da produção aquícola mundial observa-se uma crescente demanda por farinha e óleos de peixes pelas indústrias de rações, porém, como a oferta também se encontra estagnada, o valor desses ingredientes tende a aumentar no mercado (FAO, 2008). Além disso, há uma preocupação mundial cada vez maior com o meio ambiente e a sustentabilidade, o que alerta para a busca de fontes alternativas em relação a utilização da farinha e óleo de peixe na nutrição animal. Estudos têm demonstrado que a utilização de farelos e óleos de origem vegetal na dieta de peixes brasileiros de água doce não prejudica o desempenho de crescimento (MARTINO *et al.*, 2002; VARGAS *et al.*, 2008). Porém, a inclusão de ingredientes vegetais pode mudar o perfil de ácidos graxos dos tecidos dos peixes, aumentando os níveis de ácidos graxos da série n-6 e diminuindo os da série n-3, provocando, impactos na saúde dos consumidores de pescado, uma vez que os ácidos graxos n-3, especialmente o docosaexaenóico (DHA) e o eicosapentaenóico (EPA), têm efeitos benéficos à saúde humana (BAZAN, 2006; LIMA *et al.*, 2000; MARCHIOLI; BARZI; BOMBA, 2002; MOZAFFARIAN *et al.*, 2005; YOKOYAMA e ORIGASA, 2003).

Além disso, a alteração no perfil de ácidos graxos dos tecidos dos peixes devido à utilização de ingrediente de origem vegetal na dieta também pode prejudicar o desempenho reprodutivo, pois, os lipídios e ácidos graxos estão relacionados à produção de hormônios e ao desenvolvimento gonadal (IZQUIERDO *et al.*, 2001) e serão utilizados como material nutritivo pelo embrião e larva (ADAMS *et al.*, 1999). Estudos evidenciam a relação entre os ácidos graxos polinsaturados e o desempenho reprodutivo de peixes marinhos (ALMANSA *et al.*, 1999; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995; IZQUIERDO *et al.*, 2001; PICKOVA e MORKORE, 2007; RAINUZZO *et al.*, 1997; SARGENT *et al.*, 1999;) e de água doce (ANDRADE, 2007; EL-SAYED, 2005; SINK e LOCHMANN, 2008).

Uma alternativa da utilização de óleo de peixe na ração aliada com a sustentabilidade seria a extração desse ingrediente a partir de resíduos, já que durante o processamento de pescado são gerados ao redor de 50% de resíduos do volume total, os quais muitas vezes, são descartados indevidamente gerando um grande impacto ambiental negativo. Contudo, ainda são necessários maiores estudos sobre a exigência de ácidos graxos na nutrição dos peixes brasileiros para as fases reprodutiva e em crescimento. Uma possível técnica para desenvolver dietas ideais para reprodutores seria determinar a composição dos tecidos de reprodutores selvagens e tentar reproduzir essas composições em ovos de peixes em cativeiro pela manipulação da dieta. Sendo assim, o avanço em pesquisas em ácidos graxos é essencial para a elaboração de dietas balanceadas que promovam o crescimento e desenvolvimento dos peixes e seus reprodutores, além de promover um interesse especial para os consumidores da carne de pescado, haja visto os benefícios associados à saúde promovidos pelos ácidos graxos altamente insaturados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Lipídios e ácidos graxos*

Lipídios podem ser definidos como um grupo de compostos quimicamente diferentes entre si, porém, possuem as características de ser insolúveis em água e apresentarem solubilidade em solventes apolares (NELSON; COX, 2006). Dentro do grupo lipídios são encontrados triglicerídeos, fosfolipídios, ceras, ácidos graxos, esteróis, alcoóis graxos, hidrocarbonetos e carotenóides (REGITANO-D'ARCE, 2006).

Os lipídios na dieta são importantes fontes de energia e ácidos graxos essenciais necessários para o crescimento normal e desenvolvimento dos peixes (NRC, 1993), pois, colaboram na absorção das vitaminas lipossolúveis e esteróis, desempenham importante papel na estrutura das membranas celulares, são componentes de hormônios e precursores da síntese de prostaglandinas e eicosanóides (LOVELL, 1998). Segundo Stansby (1982), na maioria dos casos, os lipídios dos peixes são compostos principalmente de triglicerídeos, que são a principal fonte de ácidos graxos em óleos marinhos e em menor proporção encontram-se a classe dos fosfolipídios. Em algumas espécies pode ocorrer a presença de éteres de glicerol e ésteres de cera e ainda outras substâncias associadas aos lipídios de peixes como os hidrocarbonetos, esteróis, vitaminas e pigmentos.

Em peixes, os lipídios neutros correspondem entre 50 a 90% dos lipídios totais e os triglicerídeos representam de 96 a 98% dos lipídios neutros ou apolares (CONTRERAS-GUZMÁN, 2002). Os triglicerídeos são definidos, quimicamente, como um mol de glicerol unido a três ácidos graxos iguais ou diferentes (Figura 1), com a perda de três mols de água e são considerados uma importante fonte de energia em peixes (LOVELL, 1998).

Figura 1. Estrutura molecular de um triacilglicerol (Fonte: SARGENT; TOCHER; BELL, 2002)

Os lipídios polares têm relação inversa com os lipídios neutros, perfazendo assim, de 5 a 50% dos lipídios totais. Dentro da classe lipídios polares, os fosfolipídios representam a maior quantidade e são importantes por estarem relacionados com a estrutura das membranas celulares, cobertura de lipossomas, lipoproteínas e outras micropartículas gordurosas (CONTRERAS-GUZMÁN, 2002).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias de hidrocarboneto variando de 4 a 36 átomos de carbono (NELSON; COX, 2006), estão presentes nas classes de lipídios, com exceção do colesterol (SARGENT *et al.*, 2002) e são classificados conforme os seguintes parâmetros: comprimento da cadeia carbônica, grau de insaturação, presença de metilas ramificadas na cadeia normal, posição da dupla ligação em relação ao grupo metila final e isomeria cis-trans (NELSON; COX, 2006). Os ácidos graxos são chamados de saturados quando os carbonos da cadeia estão conectados com uma ligação simples ou insaturados quando um ou mais pares de carbonos na cadeia estão ligados por duplas ligações. Os ácidos graxos que possuem duas ou mais duplas ligações na cadeia carbônica são conhecidos como ácidos graxos polinsaturados (PUFA – do inglês: *polyunsaturated fatty acid*) e aqueles que possuem cadeia com mínimo de 20 carbonos e de quatro duplas ligações são chamados de ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs – do inglês: *highly unsaturated fatty acid*) (LI *et al.*, 2004).

Como os demais vertebrados, os peixes não conseguem realizar a síntese dos ácidos graxos 18:2n-6 ou 18:3n-3 *de novo*; assim são conhecidos como ácidos graxos essenciais e devem ser fornecidos na dieta para evitar deficiências nutricionais. Em

geral, os peixes de água doce requerem os ácidos graxos linoléico (18:2n-6) e linolênico (18:3n-3), enquanto os peixes marinhos, necessitam do fornecimento dos ácidos graxos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosaexaenóico (DHA, 22:6n-3) (NRC, 1993), pois não são capazes ou possuem capacidade limitada (SARGENT *et al.*, 2003) de realizar a biossíntese de novo de DHA e EPA a partir de precursores de cadeias curtas (C18:2n-6 e C18:3n-3). SARGENT *et al.* (2002) sugerem que é admissível considerar que muitas espécies de peixes marinhos evoluíram com capacidade limitada para realizar a biossíntese de ácidos graxos EPA e DHA e este fato se deve, provavelmente, as suas dietas naturais bem providas com gordura e ácidos graxos, o que resultou em perda de habilidade de dessaturação e alongação. Uma explicação utilizada para essa exigência em relação aos ácidos graxos essenciais (EPA e DHA) em espécies marinhas é que a estrutura do ômega 3 oferece maior grau de insaturação, característica necessária nos fosfolipídios para manter as funções de permeabilidade e fluidez das membranas celulares em peixes a baixas temperaturas (LOVELL, 1998). No entanto, a abundância de C22:6n-3 em espécies tropicais, como o atum de “sangue-quente” e o bacalhau divergem desta afirmação e acredita-se que o principal determinante da fluidez dos fosfolipídios seja a mudança na proporção de ácidos graxos monoinsaturados e saturados em resposta à alteração da temperatura do ambiente (SARGENT *et al.*, 2002).

A contrário dos peixes marinhos, todos os peixes de água doce possuem a habilidade para converter o ácido linoléico (C18:2n-6) a araquidônico (C20:4n-6) e o linolênico (C18:3n-3) para EPA (20:5n-3) e finalmente, para DHA (C22:6n-3), através de um caminho que envolve uma série de enzimas de alongamento e dessaturação (SARGENT *et al.*, 2002; TURCHINI; FRANCIS; DE SILVA, 2006) como evidenciado na Figura 2.

Figura 2. Via de alongamento e dessaturação dos ácidos graxos linoléico (C18:2n-6) e linolênico (C18:3n-3) (Fonte: TURCHINI, FRANCIS; DE SILVA, 2006)

2.2. Lipídios em dietas para peixes

Além de serem fonte de ácidos graxos essenciais, os lipídios desempenham função importante em relação ao fornecimento energético em dietas para peixes. Acredita-se que por estarem em um ambiente aquático pobre em carboidratos, os peixes apresentam sistemas digestório e metabólico melhores adaptados à utilização de proteínas e lipídios como fonte de energia em relação aos carboidratos. Entretanto, peixes herbívoros e onívoros, podem digerir e metabolizar os carboidratos (LOVELL, 1998). Assim, alimentar os peixes com ingredientes que apresentem energia digestível elevada, como os lipídios, economizam a proteína que ao invés de ser consumida como fonte energética será destinada para o crescimento (LOVELL, 1998), além de resultar em redução significativa da produção e excreção da amônia (MCGOOGAN; GATLIN III, 2000; MCGOOGAN; GATLIN III, 1999).

O cultivo de organismos aquáticos é dependente da indústria da farinha e óleo de peixes como ingredientes principais nas dietas, por apresentarem quantidades

suficientes de aminoácidos e ácidos graxos essenciais. Contudo, esse cenário está mudando, pois, a utilização desses ingredientes não proporciona a sustentabilidade da aquicultura, uma vez que a produção do setor da pesca se encontra estagnado (FAO, 2008).

Tacon e Metian (2008) descrevem, em uma revisão sobre a utilização da farinha e óleo de peixe como ingredientes nas dietas no setor da aquicultura, que seus consumos devem diminuir drasticamente devido a: estabilidade e/ou queda das reservas mundiais de peixes forrageiros selvagens destinados a produção de farinha e óleo de peixe; aumentos nos custos da pesca e na demanda de peixes pelágicos forrageiros para consumo humano direto e/ou para alimentação animal resultando no acréscimo do preço desses peixes; conseqüente, aumento no preço da farinha e óleo de peixes seguido por pressão sobre fabricantes para a substituição por um ingrediente que permita a produção ainda rentável e pressão crescente por parte da sociedade civil para melhora na questão da sustentabilidade. Com a queda na produção de farinha e óleo de peixes, os autores prevêem que esses ingredientes terão utilização restrita e serão considerados ingredientes especiais, destinados para fases de maior valor como no acabamento e em dietas de reprodutores.

Segundo a FAO (2008) a aquicultura continua a ser o setor que mais cresce no mundo dentro da produção animal, com um salto de oferta per capita de organismos aquáticos de 0,7kg em 1970 para 7,8kg em 2006 com produção de 51,7 milhões de toneladas, representando assim, uma taxa de crescimento médio anual de 6,9%, o que exalta a necessidade de alternativas para farinha e óleo de peixe. Deste modo, estudos têm sido realizados para avaliar a substituição da farinha e/ou óleo de peixe por farelos e/ou óleos provenientes de fontes vegetais. Pickova e Morkore (2007) alertam que se devem avaliar questões importantes quanto à utilização dos óleos vegetais em dietas para peixes em relação ao crescimento, saúde, bem-estar, qualidade do produto final e perfil de ácidos graxos, que podem gerar impactos sobre a saúde dos consumidores de pescado.

Ao contrário da produção de óleo de peixe que tem permanecido estável desde as três últimas décadas, a produção de óleo vegetal continua crescendo consideravelmente (TURCHINI; TORSTENSEN; WING-KEONG., 2009). O Brasil é um

grande produtor de óleo de soja, o qual é utilizado comumente para elaboração de rações animais devido ao seu baixo custo e ampla disponibilidade. Martínez-Llorens *et al.* (2007) avaliaram em *Sparus aurata* a substituição do óleo de peixe por óleo de soja nos seguintes níveis: 0, 24, 48 e 72%. Ao final de 309 dias, os peixes que receberam a dieta contendo a substituição de 72% obtiveram menor ganho em peso em relação aos demais grupos estudados. A quantidade de óleo de soja na dieta não influenciou o consumo de ração, composição corporal e na rentabilidade econômica. Porém, houve diferenças em relação a composição de ácidos graxos, observados pelas crescentes presenças de C18:2n-6 e C18:3n-3 e diminuições de EPA e DHA, conforme maiores inclusões de óleo de soja. Os autores concluem que pode ser utilizado o nível de 48% de substituição do óleo de peixe por óleo de soja até atingir o peso de abate comercial. Da mesma forma, Izquierdo *et al.* (2003) sugerem a substituição de até 60% do óleo de peixe por óleo de soja, óleo de canola, óleo de linhaça ou uma mistura desses óleos vegetais no cultivo de *Sparus aurata* e *Dicentrarchus labrax* sem comprometimento do crescimento dos animais. No entanto, também observaram a mudança de perfil de ácidos graxos que acompanharam os ácidos graxos presentes na dieta. Ainda, verificaram a presença de ácidos graxos polinsaturados no músculo (ausentes na dieta) de *Sparus aurata* alimentado com dieta contendo óleo de linhaça e do *Dicentrarchus labrax* arraçoado com dieta com óleo de soja, sugerindo ativação das enzimas ligadas ao processo de dessaturação.

Por outro lado, diferenças significativas no crescimento foram encontrados em estudo com *Lates calcarifer* alimentado com dietas isoenergéticas e isoprotéicas, mas com diferentes fontes de lipídios: óleos de peixe, soja, canola, linhaça e a mistura entre óleos vegetais e de peixe. Os peixes alimentados com a dieta que continha óleo de peixe ou uma mistura entre óleos de peixe e óleos vegetais apresentaram maior ganho em peso em relação aos grupos experimentais que receberam ração somente com lipídio proveniente de fonte vegetal. A mistura entre óleos vegetais e óleo de peixe pode aumentar a digestibilidade energética da dieta, proporcionada pelo melhor balanço entre ácidos graxos (RASO; ANDERSON, 2003), o que geraria menor custo com a formulação da ração. Os autores ressaltam que o óleo de peixe ainda se faz necessário

para espécies carnívoras marinhas para o fornecimento dos ácidos graxos essenciais que não podem ser supridos pelos óleos vegetais.

Em relação a espécies de água doce, Martino *et al.* (2002) avaliaram quatro dietas variando somente a fonte de lipídios entre: banha de porco, óleo de milho, óleo de soja e óleo de linhaça sobre o desempenho zootécnico e perfil de ácidos graxos corporal de alevinos de *Pseudoplatystoma coruscans*. Nesse estudo, não foram notadas diferenças significativas quanto ao crescimento dos animais. Porém, a composição dos lipídios da carcaça foi influenciada pela fonte de lipídio incluída na ração. Desse modo, os animais alimentados com banha de porco apresentaram maiores teores de ácidos graxos saturados com maiores níveis de ácido palmítico e oléico; os peixes que receberam as dietas com óleo de milho e soja continham maiores quantidades de C18:1n-9 e C18:2n-6 e os peixes que foram arraçoados com a dieta contendo óleo de linhaça apresentaram maiores níveis de ácidos graxos da série n-3, representado na sua maior parte por C18:3n-3. Foram encontrados maiores teores de ácidos graxos altamente insaturados, sugerindo assim, que o pintado possui a capacidade de alongar e dessaturar ácidos de cadeia com 18 carbonos para EPA e DHA.

Do mesmo modo, Arslan *et al.* (2008) testaram dietas isoprotéicas e isolipídicas para *Pseudoplatystoma fasciatum*, peixe carnívoro de água doce, variando somente a fonte lipídica, porém, com inclusão de uma fonte contendo óleo de peixe: ésteres de ácido oléico e linoléico, óleo de oliva misturado com óleo de linhaça, óleo de fígado de bacalhau e lecitina de soja. Os peixes alimentados com lecitina de soja apresentaram o maior crescimento devido, provavelmente, ao ácido linoléico que está presente na fração fosfolipídica na lecitina de soja, enquanto nos óleos vegetais, inclusive no óleo de soja, é encontrado na fração triglicerídica. Os fosfolipídios na dieta estão relacionados com a melhora no transporte lipídico nos enterócitos do intestino, sendo absorvidos rapidamente com incorporação mais efetiva nos tecidos do que o triacilglicerol. Baixos valores de ganho em peso foram observados nos animais que receberam dieta com óleo de fígado de bacalhau e apresentaram maior relação n-3/n-6, o que pode indicar que altas concentrações de n-3 HUFA possuem um impacto negativo no desempenho de crescimento dos juvenis de surubim. Sugere-se que essa

espécie de água doce requer maiores quantidades de n-6 em comparação com n-3 para máximo crescimento. DA mesma forma, no estudo de Martino *et al.* (2002) foram verificados maiores valores de n-3 HUFA nos fígados dos peixes alimentados com fonte vegetais, sugerindo que a espécie em questão consegue alongar e dessaturar o 18:3n-3 para 22:6n-3 via 20:5n-3, assim como os níveis de ácido araquidônico aumentaram nos músculos e fígados, indicando uma conversão a partir do ácido linoléico.

Em estudos de substituição do óleo de peixe por óleo vegetais em dietas para jundiá (*Rhamdia quelen*), Vargas *et al.* (2008) não verificaram diferenças na performance de crescimento entre os grupos experimentais. A composição final do perfil de ácidos graxos do músculo refletiu a composição das dietas. Os autores demonstraram que os peixes alimentados com dietas contendo óleo de linhaça e/ou óleo de peixe apresentaram a relação n-3/n-6 superior ao mínimo recomendado pela organização mundial da saúde, sendo que os peixes arraçoados com a dieta contendo óleo de milho não atingiram esse valor. Além disso, a capacidade de dessaturação e alongação dessa espécie também foi evidenciada pela presença de ácidos graxos altamente insaturados na composição corporal dos peixes alimentados com as rações que continham óleos vegetais.

Como demonstrado nos estudos citados, o perfil de ácidos graxos dos peixes reflete o perfil dos ingredientes da dieta. Assim, a principal desvantagem da substituição do óleo de peixe por farelos e/ou óleos vegetais na elaboração de rações é a inevitável mudança no perfil de ácidos graxos e conseqüentemente, a perda da característica particular de promoção da saúde (TURCHINI; TORSTENSEN; WING-KEONG, 2009), uma vez que maiores inclusões de fontes de origem vegetais promovem o aumento nos níveis de n-6 e diminuição níveis de n-3 da dieta, e conseqüentemente, ocorre a queda na relação n-3/n-6 nos músculos de peixes alimentados com fontes vegetais. Estudos relacionados à saúde e nutrição humana evidenciaram a importância de uma dieta rica em alimentos que contenham ácidos graxos da série n-3 (EPA e DHA) e relação n-3/n-6 equilibrada, os quais proporcionam benefícios à saúde humana (BAZAN, 2006; MARCHIOLI ; BARZI; BOMBA, 2002; MOZAFFARIAN *et al.*, 2005; YOKOYAMA; ORIGASA, 2003;). Uma estratégia para melhorar o perfil de ácidos graxos do músculo dos peixes que foram alimentados com dietas contendo óleos de origem vegetal seria a

utilização de rações de acabamento com os tradicionais ingredientes (farinha e óleo de peixe) para assegurar um bom nível de ácidos graxos altamente insaturados (TACON, 2008; TURCHINI; GUNASEKERA; DE SILVA, 2003)

Outra possibilidade seria a utilização de resíduos gerados a partir do processamento do pescado que está despertando interesse na nutrição, uma vez que agregam valor no produto gerado e colaboram para a sustentabilidade do setor. Assim, Turchini, Torstensen e Wing-Keong (2009) evidenciam o crescente interesse no emprego desses resíduos, como farinha e óleo de peixe para produção de peixes orgânicos cultivados. Normas da União Européia para certificação da aquicultura orgânica estabelecem preferencialmente a utilização de farinha e óleo de peixe derivados de resíduos do processamento do pescado proveniente da captura (CRAIG, 2004). Porém, o Comitê Científico de Saúde e Bem-Estar Animal da União Européia recomenda que os resíduos utilizados na nutrição da aquicultura não sejam provenientes do cultivo, devido à ausência de comprovações sobre transmissão negativa de patógenos através da farinha de peixe (TURCHINI; TORSTENSEN; WING-KEONG, 2009)

Turchini, Gunasekera e De Silva (2003) avaliaram o efeito do óleo cru de resíduos de truta como substitutivo do óleo de peixes em dietas para *Maccullochella peelii peelii*. O óleo foi obtido da digestão com ácido fórmico em barris de plástico por três dias (30°C) e a camada sobrenadante foi decantada, filtrada e utilizada no estudo. Foram feitas 5 dietas experimentais, a primeira nomeada de controle era composta somente por óleo de fígado de bacalhau e as demais continham 25, 50, 75 e 100% de substituição por óleo de truta, respectivamente. O desempenho de crescimento não foi afetado pela substituição do óleo de fígado de bacalhau em nenhum dos níveis de adição de óleo de resíduos de truta e, além disso, os animais que receberam as dietas que continham 50 e 70% de óleo de resíduos de truta apresentaram pesos finais maiores em comparação aos demais grupos. Nesse sentido, os autores concluem que a substituição do óleo de peixe tradicional pelo óleo de peixe proveniente do resíduo da indústria de alimentos aquáticos reduzirá os custos de alimentação e será um importante passo na gestão dos resíduos provenientes da atividade aquícola.

Em bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), O'Neal e Hohler (2008), observaram que dietas contendo sebo bovino, óleo de resíduos de bagre do canal e óleo de savelha (*menhaden*) oferecidas por doze semanas não provocaram diferenças nas características produtivas, indicando que as três fontes lipídicas são igualmente efetivas como fonte de energia. Porém, como esperado, os peixes alimentados com sebo bovino apresentaram o perfil de ácidos graxos do músculo com menores níveis nos ácidos graxos da série n-3. Por outro lado, não foram notadas diferenças significativas entre os principais ácidos graxos relacionados à melhoria na saúde humana (AA, EPA e DHA) no filé dos peixes alimentados com rações que continham o óleo de peixe tradicional e óleo de resíduos de bagre do canal.

Resultados semelhantes foram encontrados por Boscolo *et al.* (2008) no desempenho de crescimento de larvas de tilápia na fase de reversão sexual. Foi avaliada a inclusão do óleo de resíduos de tilápia na alimentação em substituição (0, 25, 50, 75, 100%) ao óleo de soja. Não foram encontrados diferenças entre o peso e comprimento finais, sobrevivência e fator de condição, o que indica que o óleo proveniente de resíduos de tilápia pode substituir totalmente o óleo de soja em dietas para larvas de tilápia durante a fase de reversão sexual. Os autores alertam que a utilização do óleo de tilápia proveniente do processamento como ingrediente na nutrição animal é uma alternativa promissora para a indústria frigorífica brasileira, que atualmente, estoca grandes quantidades de óleo e em algumas ocasiões, descarta-o inadequadamente gerando poluição ambiental.

Com o crescimento da aquicultura brasileira faz-se necessário pesquisas e tecnologia para o aproveitamento dos resíduos gerados. É imprescindível investigar o efeito do uso de óleo de resíduos de peixe em dietas para organismos aquáticos, não somente em relação ao desempenho de crescimento, mas também sobre a possível melhora no perfil de ácidos graxos no músculo.

2.3. Lipídios e reprodução de peixes

Em peixes, a gordura pode ser armazenada em diversos locais do corpo; como fígado, tecidos mesentéricos, sob a pele, músculos e parede abdominal, sendo que todas as espécies armazenam lipídios nas gônadas (CONTRERAS-GUZMÁN, 2002).

No entanto, em cada período do ciclo de vida há mudanças notáveis no teor de gordura e composição dos ácidos graxos presentes nos tecidos dos peixes (HUYNH *et al.*, 2007). Durante o período de maturação gonadal, as reprodutoras de peixe necessitam de uma grande disponibilidade de macro e micronutrientes para transferirem aos ovócitos (CEJAS *et al.*, 2004). A mobilização lipídica realizada para o desenvolvimento e maturação gonadal depende da espécie de peixe, podendo ser proveniente da reserva de gordura de um ou mais tecidos, principalmente do músculo e do fígado (ADAMS, 1999).

Os lipídios e a composição em ácidos graxos da dieta dos reprodutores têm sido avaliados como o fator principal no sucesso da reprodução em peixes (IZQUIERDO *et al.*, 2001), pois estão relacionados com o desenvolvimento gonadal e a produção de hormônios. Os ácidos graxos são mobilizados a partir das reservas lipídicas durante a gametogênese, transferidos para o desenvolvimento dos ovários e incorporados como material nutritivo no ovo, servindo como principal fonte endógena de alimento no desenvolvimento embrionário e larval (ADAMS, 1999).

Em relação à distribuição de lipídios do músculo e fígado de fêmeas de peixes marinhos, estudos prévios estabeleceram que a fração de lipídio neutro estocada no músculo e fígado é mobilizada no início da vitelogênese e contribui para as reservas dos ovos e/ou é utilizada como substrato energético para a síntese de lipoproteínas que transportam lipídios e proteínas do fígado para os ovários (ALMANSA *et al.*, 2001). Avaliando a composição corporal de machos e fêmeas de *Sciaenops ocellatus*, Craig *et al.* (2000) verificaram que esta espécie armazena grandes quantidades lipídicas no fígado que são prontamente mobilizadas para as gônadas no período reprodutivo, ao contrário do tecido muscular que é pouco utilizado como depósito de lipídios, uma vez que sofreu poucas modificações durante o ano. Os pesquisadores afirmam que os altos teores em relação aos valores de triglicerídeos no verão sugere que esta classe lipídica é mobilizada sazonalmente, possivelmente para a atividade de síntese de vitelogenina ou energia para a migração e desova, não havendo mudanças nos valores de ácidos graxos livres e colesterol. Por outro lado, Pérez *et al.* (2007) estudando o conteúdo lipídico e ácidos graxos das gônadas, músculos e fígado em reprodutores de *Diplodus sargus* no período pré, durante e pós-desova, observaram maior frequência

dos ácidos graxos C16:0, C18:1n-9, C20:5n-3, C20:5n-3 e C22:6n-3 e elevação do conteúdo lipídico durante o período de maturação gonadal nos tecidos avaliados nas fêmeas, indicando que o desenvolvimento dos ovários ocorreu sem o esgotamento dos nutrientes do corpo, e inferiram que o desenvolvimento ovariano esteve relacionado com os nutrientes providos da alimentação exógena.

Parece haver forte relação entre as composições nos perfis de ácidos graxos dos tecidos de peixes com o da dieta consumida. Mnari *et al.* (2007) verificaram que *Sparus aurata* cultivados apresentaram altos teores de lipídios e de ácidos graxos polinsaturados da série n-3, particularmente o DHA e EPA, no músculo dorsal e ventral e fígado, refletindo assim, o perfil de ácidos graxos da dieta comercial que estavam ingerindo no período do experimento. Os peixes selvagens apresentaram maior quantidade de ácidos graxos da série n-6, especialmente o araquidônico (20:4n-6), e baixos níveis de ácidos graxos n-3 devido, provavelmente, a dieta rica em moluscos, os quais podem apresentar quantidades variadas de C22:6n-3.

Pesquisadores (SARGENT *et al.*, 2002; WIEGAND, 1996) relataram que uma maneira para desenvolver dietas ideais em relação ao nível de lipídios e ácidos graxos para reprodutores é determinar e comparar a composição do perfil de ácidos graxos de exemplares de peixes selvagens e de cativeiro, e desse modo, tentar reportar essa composição nas dietas para peixes em condições de cultivo.

Apesar dos estudos sobre nutrição de peixes terem se iniciado há 70 anos (BELAL, 2005), Izquierdo *et al.* (2001) alertam que a nutrição voltada para os peixes reprodutores é sem dúvida uma das áreas menos estudada e pesquisada, e que deve ser destacada por sua importância na produção e manutenção de grandes grupos de peixes para a aquicultura. Estudos têm demonstrado que em muitas espécies de peixes marinhos, os ácidos graxos polinsaturados (PUFA) nas dietas dos reprodutores, aumentaram a fecundidade, fertilização e qualidade do ovo. Almansa *et al.* (1999), observaram que a substituição de n-3 PUFA por ácido oléico e linolênico afetou a qualidade e composição de ácidos graxos dos ovos de *Sparus aurata* L no meio e final da época reprodutiva. Da mesma maneira, Fernández-Palacios *et al.* (1995) verificaram que a composição dos ovos e a qualidade da desova do *gilthead sea bream* (*Sparus aurata* L.) foi afetada pela dieta com diferentes níveis de PUFA n-3 (1,13 a 3,15%) após

três semanas de alimentação, sugerindo que a incorporação de 1,6% de *n*-3 aumentou a fecundidade, taxas de eclosão e sobrevivência larval. Porém, os níveis elevados de PUFA *n*-3 foram associados com a redução de fecundidade e saco vitelínico atrofiado.

Li *et al.* (2005) avaliaram o efeito de diferentes níveis de *n*-3 PUFA (1,12; 2,40; 3,70; 5,85%) na dieta de reprodutores de *Plectorhynchus cinctus* em relação à fecundidade e qualidade dos ovos e larvas. Os melhores resultados foram observados nos níveis de 2,40 a 3,70% de *n*-3, assim como no controle (resíduo de peixe). Os autores concluíram que baixos ou altos níveis de *n*-3 PUFA na dieta de reprodutores, desta espécie, podem provocar um efeito negativo na produção e qualidade dos ovos.

Atualmente, a dieta formulada é considerada um fator importante na aquicultura, pois sua composição pode ser totalmente controlada e adequada à fase de desenvolvimento do peixe, o que garante maior segurança para o produtor, além de ser favorável ao transporte, estocagem e manejo. Com o intuito de substituir a dieta tradicional (resíduos de peixe) do *Hippoglossus hippoglossus*, Mazzora *et al.* (2003) ofereceram dietas enriquecidas com farinha de Krill ou óleo de atum para os reprodutores. As dietas ofereceram resultados similares nas taxas de fecundidade relativa e fertilização, demonstrando, que esta espécie pode ser mantida com rações formuladas sem nenhum prejuízo no desempenho reprodutivo e na qualidade dos ovos.

El-Sayed (2005) estudou o efeito da salinidade da água e a adição de diferentes fontes lipídicas na dieta de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no desempenho reprodutivo e crescimento das larvas e constatou que ao nível de 7 e 14‰ de salinidade, os peixes alimentados com dietas contendo óleo de fígado de bacalhau ou a mistura de óleo de soja com óleo de fígado de bacalhau, desovaram mais freqüentemente, em menores intervalos quando comparado com os peixes alimentados com óleo de soja. Ainda, o tratamento com óleo de fígado de bacalhau aumentou a fecundidade absoluta e número de ovos por desova em salinidades distintas.

Pickova e Morkore (2007) verificaram que a substituição em 40% do óleo de peixe por óleo de soja não influenciou no peso corporal, crescimento e nem o teor de lipídios no músculo, fígado, coração, rim e baço do bacalhau. Entretanto, os peixes alimentados com óleo de soja apresentaram gônadas menores e conseqüentemente, valores mais baixos de índices gonadossomáticos, além de teor lipídico menor nas

gônadas após seis semanas de alimentação e conteúdo mais baixo de colesterol no fígado, quando comparados com o grupo que recebeu óleo de peixe. Os autores atribuíram esse fato a presença do fitosterol (sitosterol, campesterol e estigmasterol) presente somente no óleo de soja que podem provocar mudanças no metabolismo do colesterol e na reprodução, uma vez que o colesterol é um precursor de hormônios esteróides.

Muitos estudos já foram conduzidos com peixes marinhos, comprovando a exigência de ácidos graxos polinsaturados na nutrição dos reprodutores para o sucesso e qualidade da reprodução (IZQUIERDO *et al.*, 2001; RAINUZZO *et al.*, 1997; SARGENT *et al.*, 1999, WATANABE, 1982;).

Na literatura, foram encontrados poucos estudos com espécies de água doce. Por possuírem dieta diferente dos peixes marinhos, possivelmente possuem exigências diferentes na quantidade e qualidade de ácidos graxos que são mobilizados para a reprodução. Parra *et al.* (2008) avaliaram o desempenho de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) oriundas de reprodutores alimentados com dietas contendo três fontes de lipídios; banha suína, óleo de girassol e óleo de canola. Concluíram que o desempenho das reprodutoras e o desenvolvimento larval não foram afetados pela fonte lipídica utilizada na dieta. Em experimentos com bagres do canal, Sink e Lochmann (2008) verificaram que a suplementação com 10% de óleo de peixe aumentou o sucesso das desovas, volume total dos ovos, peso dos ovos individuais, ovos por desova, taxa de eclosão e sobrevivência larval em comparação com dieta controle com 4% de óleo de peixe. Os autores verificaram que a inclusão de 10% de gordura de aves proporcionou resultados similares à dieta com 10% de óleo de peixe, com exceção da composição em ácidos graxos dos ovos.

Atualmente, existe grande interesse na produção de peixes nativos brasileiros que apresentam alto valor econômico. A reprodução destes peixes é um item importante na aquicultura, pois contribui para a produção de grandes estoques pesqueiros.

2.4. *Lambari*

A maior parte de peixes nativos brasileiros de água doce pertence à família Characidae e a subfamília Tetragonopterinae é a que possui o maior número de

espécies (NOMURA, 1975). O gênero *Astyanax* é compreendido por espécies que ocupam diversos habitats nas bacias hidrográficas brasileiras (GARUTTI; BRITSKI, 2000) e os peixes pertencentes a esse gênero recebem o nome vulgar de lambari.

Dentre as espécies deste gênero, encontra-se o lambari de rabo-amarelo *Astyanax altiparanae*, inicialmente conhecido como *Astyanax bimaculatus* (GARUTTI; BRITSKI, 2000), povoa desde pequenos riachos, lagos e grandes rios, apresenta-se como uma espécie de pequeno porte e hábito alimentar onívoro (PORTO-FORESTI, 2001), sendo que, em ambiente natural se alimenta de pequenos insetos, sementes e vegetais (BENNEMANN *et al.*, 2005).

O lambari do rabo amarelo atinge de 10 a 15 cm de comprimento e até 60 gramas de peso e apresenta dimorfismo nítido entre os sexos, sendo que as fêmeas se apresentam maiores e com corpo mais arredondado, enquanto os machos possuem a forma corporal mais estreita e apresentam espículas ásperas na nadadeira anal (PORTO-FORESTI; CASTILHO-ALMEIDA; FORESTI, 2005). A maturidade gonadal é atingida ao redor de quatro meses de idade, a fecundação é externa com desova parcelada, não apresentam cuidado com a prole e o período reprodutivo é considerado prolongado estendendo-se de setembro a março (VAZZOLER, 1996).

Muitos estudos foram realizados com lambari em relação a sua biologia (VEREGUE; ORSI, 2003), porém estudos como espécie de interesse comercial são relativamente novos e ainda escassos. Para o lambari, destacam-se trabalhos de Cotan *et al.* (2006), os quais determinaram a exigência de 2.900 kcal de energia digestível por kg de ração contendo 32 ou 38% de proteína bruta. Meurer *et al.*, (2005) verificaram que a melhor frequência alimentar para lambaris cultivados em hapas foi de 11,5% do peso vivo, enquanto Hayashi *et al.* (2004) determinaram o nível diário de alimentação em quatro vezes, em água com temperatura médias de 25,5°C.

Por apresentar características ideais para o cultivo como fácil obtenção de alevinos, crescimento rápido, rusticidade e fácil manejo, o lambari possui grandes interesse no mercado comercial, pois pode ser utilizado tanto como isca viva na pesca esportiva ou como alimento humano na forma de petisco frito ou até mesmo congelado ou enlatado e atualmente, no Brasil, a espécie vem despertando interesse dos piscicultores (PORTO-FORESTI; CASTILHO-ALMEIDA; FORESTI *et al.*, 2005). Além

das características promissoras que o *Astyanax altiparanae* representa para aquicultura nacional, a escolha do lambari para realização desse estudo também se dá pelo fato de ser uma espécie que apresenta gerações curtas e prole numerosa, servindo, como modelo para futuros trabalhos de reprodução com espécies nativas.

3. Objetivos gerais

Avaliar diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, óleo de resíduos de tilápia e óleo de resíduos de salmão) sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e o perfil de ácidos graxos de músculos, ovos e larvas de lambari (*Astyanax altiparanae*).

Determinar e comparar as composições de ácidos graxos de músculo, ovários e fígado de lambaris selvagens e de cativeiro.

3.2. Objetivos Específicos

- (i) Aproveitar os resíduos do processamento de pescado para a obtenção de óleo de tilápia do Nilo;
- (ii) Caracterizar química e nutricionalmente os óleos de resíduos de tilápia e salmão;
- (iii) Avaliar o efeito da suplementação em diferentes fontes de óleo no desempenho reprodutivo, no perfil de ácidos graxos do músculo das reprodutoras e dos ovos e larvas, e na regeneração dos ovários pós-desova (Experimento 1)
- (iv) Avaliar o efeito da suplementação com diferentes fontes de óleo no desempenho em crescimento e no perfil de ácidos graxos do músculo de machos e fêmeas de lambari (Experimento 2)
- (v) Determinar e comparar o perfil de ácidos graxos no lipídio total e frações polares e apolares de tecidos (músculo, ovários e fígado) de fêmeas de lambaris selvagens e de cativeiro (Experimento 3)

3.3. Hipóteses

- (i) A suplementação na dieta com fonte de óleo provida de maior teor de ácidos graxos altamente insaturados pode melhorar o desempenho reprodutivo e a regeneração dos ovários pós-desova;
- (ii) A adição de diferentes fontes de óleo na dieta não modifica o desempenho em crescimento de lambari, mas pode mudar o perfil de ácidos graxos do músculo;
- (iii) Os perfis de ácidos graxos dos tecidos de fêmeas de lambaris selvagens diferem das criadas em cativeiro, e no período reprodutivo há mobilização de ácidos graxos altamente insaturados para os ovários.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção da matéria-prima e óleo de peixe e suas caracterizações

Neste projeto foram utilizados óleos de soja e óleos provenientes de resíduos de tilápia do Nilo e de salmão. O óleo de soja foi adquirido em comércio local da região de Pirassununga/SP e o óleo de resíduo de salmão foi cedido pela empresa *Damm Produtos Alimentícios LTDA/SP*, o qual foi extraído sob aquecimento na elaboração da farinha de peixe. O óleo de tilápia foi extraído de carcaças desprovidas de vísceras e cabeças provenientes do processamento da empresa “*Tilápia do Brasil*”, Buritama/SP.

Os resíduos de tilápia foram transportados em caixas isotérmicas para o laboratório de Aqüicultura da FZEA/USP, onde foram moídos em picador de carne, homogeneizados e centrifugados (Centrífuga Centra GP8R Thermo IEC, 4200 rpm) durante 30 minutos. A fração lipídica sobrenadante do resíduo de tilápia do Nilo foi coletada com o auxílio de pipeta, e filtrada utilizando-se bomba a vácuo contendo papel filtro (Whatman nº 4) e sulfato de sódio para retenção de resíduos sólidos e umidade remanescente.

4.1.2. Análises químicas

4.1.2.1. Rendimento (%)

Pesou-se a fração de óleo bruto de tilápia e calculou-se o rendimento em relação à matéria-prima.

4.1.2.2. Índices de qualidade

As amostras de óleo de peixe foram acondicionadas em frascos plásticos negros, armazenadas em congelador à temperatura de -18°C com 1% de BHT para a realização das seguintes análises (A.O.A.C., 1995):

- *Índice de Peróxido* ($\text{meq O}_2.\text{kg}^{-1}$): diluição das amostras de 5g de óleo em solução de ácido acético e clorofórmio (3:1) e adição de solução iodeto de potássio saturada e água destilada. A seguir, titulação com solução tiosulfato de sódio, após adição de solução de amido 0,1%;

- *Índice de Acidez*: dissolução de amostra de 5g de óleo em álcool etílico a quente (65°C) e posterior titulação com solução de hidróxido de sódio padronizada. O ponto de viragem foi verificado com a adição do indicador fenolftaleína.

4.1.2.3. *Composição de Ácidos Graxos por cromatografia gasosa*

A composição dos ácidos graxos foi determinada nos óleos (soja, resíduos de tilápia do Nilo, salmão), nas dietas, ovos e larvas, e tecidos musculares de lambaris adultos (Experimentos 1 e 2). Para extração dos lipídios totais foi utilizado o método descrito por Bligh e Dyer (1959). Para determinação do perfil de ácidos graxos de ovos, larvas e tecido muscular de lambaris adultos, utilizou-se um Cromatógrafo a Gás CG-14B, Shimadzu, com coluna capilar de sílica fundida OMEGAWAX250 (30m x 0,25 mm x 0,25µm) n° cat. 24136-SUPELCO.

Os lipídios foram saponificados e esterificados de acordo com os procedimentos descritos por Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram separados usando cromatógrafo gasoso e a identificação dos ácidos graxos foi realizada comparando-se com o tempo de retenção dos padrões de ácidos graxos.

Condições de análise:

a) Programação de temperatura da coluna e análise:

- 100°C por 2 minutos, aquecimento 4°C/min até 220° permanecendo nesta temperatura por mais 25 minutos
- Temperatura do injetor: 250°C
- Temperatura do detector: 280°C
- Velocidade do gás de arraste (H₂): 1mL/min
- SPLIT:1/100
- Volume de injeção: 1µL
- Detector FID (Detector de Ionização de Chama)

b) Padrão utilizado: padrão de ácidos graxos Sigma (n° cat 189-19)

4.2. *Dietas experimentais (Experimentos 1 e 2)*

Para a elaboração das dietas experimentais utilizadas nos experimentos 1 e 2 foram empregadas matérias-primas comumente encontradas nas formulações de

rações para organismos aquáticos. Previamente a formulação das dietas, foram realizadas análises bromatológicas nos ingredientes (Tabela 1), conforme a A.O.A.C. (1995):

- Conteúdo de umidade por secagem em estufa (105°C) durante 16 horas;
- Teor de cinzas por queima em mufla (550°) durante 4 horas;
- Proteína bruta pelo método semi-micro Kjeldahl corrigindo-se o teor de Nitrogênio total através da multiplicação pelo fator 6,25;
- Lipídios por extração com éter de petróleo por 6 horas (Soxhlet).

Tabela 1. Valores médios da composição centesimal dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais

Ingredientes	MS	PB	EE	FB ¹	MM	ENN	Ca ¹	P _{total} ¹	EB ¹
	(g.100g ⁻¹)								Kcal.kg ⁻¹
Farinha de Peixe	92,40	61,11	8,20	0,36	20,28	10,05	5,53	2,11	4242,50
Farelo de Soja	89,89	46,13	0,78	5,92	6,50	40,67	0,21	0,85	4586,00
Farelo de Trigo	89,07	16,01	3,31	8,97	4,99	66,72	0,06	1,01	4289,00
Farelo de Milho	89,11	8,56	5,44	1,95	1,50	82,55	0,03	0,19	4284,00
Glúten de Milho	91,60	67,33	2,74	1,03	1,94	26,96	0,01	0,15	5485,00
Amido de milho	89,70	0,55	0,18	0,98	0,13	98,16	0,00	0,00	3630,00

1. Teores de Energia Bruta calculados com base na matriz do programa SuperCrac® 4.2.

2. MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FB = fibra bruta; MM = matéria mineral; ENN = extrativo não nitrogenado; Ca = cálcio; P = fósforo; EB = energia bruta

Com os resultados da análise bromatológica dos ingredientes (Tabela 1), formulou-se as dietas experimentais utilizando-se o software SuperCrac® 4.2. Como no início do experimento, os lambaris se apresentavam na forma larval, houve a necessidade de elaborar uma dieta farelada para essa fase e outra extrusada para oferta no período de crescimento e reprodução. As dietas fareladas para a fase de larvicultura possuíam aproximadamente de 30g.100g⁻¹ de Proteína Digestível e 3400kcal.kg⁻¹ de Energia Digestível (Tabela 2) e as dietas extrusadas para a fase em crescimento e reprodução aproximadamente 27g.100g⁻¹ e 3300kcal.kg⁻¹ de Proteína Digestível e Energia Digestível (Tabela 3), respectivamente.

As rações experimentais fareladas foram inicialmente peletizadas e posteriormente moídas, e as rações que foram utilizadas na fase em crescimento e reprodução foram extrusadas (granulometria de 2mm) na empresa Poytara, localizada no município de Araraquara/SP, especialista na confecção de rações para peixes ornamentais, que apresentam tamanho de abertura de boca similar ao do lambari e ambos exigem rações com pequena granulometria.

Tabela 2. Formulação e valores médios para a composição centesimal das dietas experimentais fareladas na fase de larval (Experimento 1)

Ingredientes	Dietas Experimentais		
	SO	TI	SA
Farelo soja	36,00	36,00	36,00
Milho (grão)	13,30	13,30	13,30
Farelo de trigo	21,82	21,82	21,82
Glúten de milho	6,00	6,00	6,00
Amido de milho	6,00	6,00	6,00
Farinha de peixe	8,16	8,16	8,16
Caulim	3,00	3,00	3,00
Óleo de Soja	5,00	-	-
Óleo de resíduo de tilápia	-	5,00	-
Óleo de resíduo de salmão	-	-	5,00
Suplemento vitamínico e mineral	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,20	0,20	0,20
BHT	0,02	0,02	0,02
Nutrientes			
Matéria Seca*	96,73	97,18	96,82
Proteína bruta	35,26	34,76	34,77
(P. digestível)*	(30,24)	(30,80)	(30,81)
Extrato etéreo*	7,38	8,03	7,13
Fibra bruta*	4,81	4,81	4,81
Matéria mineral*	9,33	9,27	9,58
Extrato não nitrogenado*	43,22	43,13	43,71
Ca*	0,54	0,54	0,54
P _{total} *	0,73	0,73	0,73
Lisina*	1,57	1,57	1,57
Metionina total*	0,52	0,52	0,52
Triptofano*	0,44	0,44	0,44
Energia bruta*	4524,05	4524,05	4524,05
(E. Digestível)*	(3569,90)	(3569,90)	(3569,90)
Kcal kg ⁻¹			

SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão

* Valores calculados pela matriz formuladora do programa Super Crac® 4.2

**Composição do suplemento mineral e vitamínico Supre Mais® (níveis de garantia por kg de ração) - Minerais: cloreto de colina= 108g; niacina= 24.000mg; selênio= 100mg; iodo= 100mg; cobalto= 10mg; cobre= 3.000mg; ferro= 50.000mg; manganês= 20.000mg; zinco= 30.000mg. Vitaminas: A= 1.200.000UI; B1= 4.800mg; B12= 4.800mg; B6= 4.800mg; C=48g; D= 200.000UI; E= 12.000mg; K3=2.400mg; ácido fólico= 1.200mg; biotina= 48mg; pantotenato de cálcio= 12.000mg

Tabela 3. Formulação e valores médios da composição centesimal das dietas experimentais extrusadas para as fases em crescimento (Experimento 1) e reprodução (Experimento 2)

Ingredientes	Dietas Experimentais		
	SO	TI	SA
Farelo soja	29,08	29,08	29,08
Milho (grão)	26,00	26,00	26,00
Farelo de trigo	10,70	10,70	10,70
Glúten de milho	8,50	8,50	8,50
Amido de milho	3,00	3,00	3,00
Farinha de peixe	12,00	12,00	12,00
Caulim	5,00	5,00	5,00
Óleo de Soja	5,00	-	-
Óleo de resíduo de tilápia	-	5,00	-
Óleo de resíduo de salmão	-	-	5,00
Suplemento vitamínico e mineral	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,20	0,20	0,20
BHT	0,02	0,02	0,02
Nutrientes			
Matéria Seca	92,37	93,13	93,61
Proteína bruta	32,55	31,53	32,02
(P. digestível)*	(28,97)	(28,06)	(28,50)
Extrato etéreo	6,53	7,96	7,27
Fibra bruta*	3,35	3,35	3,35
Matéria mineral	11,52	10,99	11,19
Extrato não nitrogenado	46,05	46,17	46,17
Ca*	0,74	0,74	0,74
P _{total} *	0,67	0,67	0,67
Lisina*	1,48	1,48	1,48
Metionina total*	0,57	0,57	0,57
Triptofano*	0,62	0,62	0,62
Energia bruta*	4347,27	4347,27	4347,27
(E. Digestível)*	(3430,00)	(3430,00)	(3430,00)
Kcal.kg ⁻¹			

SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão

* Valores calculados pela matriz formuladora do programa Super Crac® 4.2

**Composição do suplemento mineral e vitamínico Supre Mais® (níveis de garantia por kg de ração) - Minerais: cloreto de colina= 108g; niacina= 24.000mg; selênio= 100mg; iodo= 100mg; cobalto= 10mg; cobre= 3.000mg; ferro= 50.000mg; manganês= 20.000mg; zinco= 30.000mg. Vitaminas: A= 1.200.000UI; B1= 4.800mg; B12= 4.800mg; B6= 4.800mg; C=48g; D3= 200.000UI; E= 12.000mg; K3=2.400mg; ácido fólico= 1.200mg; biotina= 48mg; pantotenato de cálcio= 12.000mg

4.3. Experimento 1: Desempenho Reprodutivo

4.3.1. Preparação dos reprodutores

De janeiro a novembro de 2008, lambaris foram alimentados com as dietas experimentais até a fase reprodutiva, como descrito a seguir: foram selecionados e separados ao acaso 945 larvas de lambari em 3 tanques de concreto com aproximadamente 4.400L, e alimentados de acordo com os seguintes tratamentos: SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo e SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão. Os lambaris foram alimentados diariamente com ração farelada 4 vezes ao dia (7:00, 10:00, 14:00 e 17:00h), durante os dois primeiros meses de vida e após esse período passaram a receber ração extrusada (33% PB e 4300 kcal de EB/kg) duas vezes ao dia (9:00 e 17:00h).

Ao redor de 12 meses de idade (dezembro de 2008) foram coletados 12 fêmeas e 24 machos de cada tratamento e distribuídos em 3 caixas/réplicas (Figura 3) contendo 4 casais cada uma (4 fêmeas: 8 machos). Para a hipofiseção foi utilizado o seguinte protocolo (HARVEY; CAROLSFELD, 1993): duas doses hormonais de 6 mg de hipófise de carpa kg^{-1} diluídos em soro fisiológico, sendo aplicado 10% na primeira dose e 90% na segunda dose com intervalo de 8 horas entre aplicações, no caso das fêmeas e uma única dose de 3 mg de hipófise de carpa kg^{-1} nos machos no momento da segunda dose das fêmeas. Para a aplicação hormonal foi utilizada seringa de 1 mL e a aplicação foi feita na inserção da nadadeira peitoral sentido caudal (Figura 4) para que não ocorresse perfuração das vísceras. Após a segunda dose hormonal, interrompeu-se o fluxo de água e os reprodutores foram mantidos em água parada, somente com forte oxigenação.

Figura 3. Tanques experimentais utilizados no experimento de reprodução no Laboratório de Aquicultura da FZEA/USP

Figura 4. Aplicação hormonal (hipófise de carpa) na inserção da nadadeira peitoral sentido caudal

A desova ocorreu naturalmente e as taxas de fertilização e eclosão foram calculadas 8 e 13 horas após desova, respectivamente. Três amostras de 30 ovos e 30

larvas de cada réplica foram coletadas em rede de malha fina (elaborada com tecido voal) e fixadas em formol tamponado 4% (NAKATANI *et al.*, 2001). Analisaram-se os diâmetros dos ovos e o comprimento total das larvas utilizando-se estereomicroscópio (aumento de 80x para ovos e 40x para larvas) conectado ao software de captura de imagens AxioVision4.

Com os dados coletados nesse experimento de reprodução foram calculados os seguintes parâmetros:

- Volume total de ovos: ovos foram transferidos para uma proveta graduada e após decantação, calculou-se o volume total;
- Número total de ovos: coletou-se com pipeta graduada 1 mL de ovos, os quais foram quantificados e estimou-se a quantidade total de ovos produzidos com base no volume desovado;
- Taxa de fertilização (%): calculada 8 h após a fertilização com análises de 100 ovos/incubadora em triplicata, verificando-se os ovos férteis e inférteis com auxílio de lupa simples com aumento de 5x;
- Taxa de eclosão (%): selecionaram-se três amostras de 100 ovos de cada repetição e contou-se a quantidade de larvas eclodidas e de ovos não eclodidos, com auxílio de lupa simples com aumento de 5x.

Como o lambari é um peixe de pequeno porte e produz menores quantidades de ovos e larvas quando comparado com outras espécies de peixes, houve a necessidade de realizar outras desovas (conforme protocolo de hipofisação apresentado acima), assim foram realizadas desovas em 12 casais por tratamento (1 fêmea: 2 machos) separados em 6 caixas (réplicas) para que houvesse quantidade suficiente de amostras para a realização de análises de ácidos graxos. A água utilizada foi filtrada em malha fina (tecido voal) para evitar entrada de qualquer tipo de substância que por ventura pudesse prejudicar as análises laboratoriais e as saídas das caixas foram teladas para evitar a mistura de ovos e larvas dos diferentes tratamentos. Após a desova, os reprodutores foram retirados e as caixas foram sifonadas individualmente. A água coletada foi novamente filtrada (tecido voal), separando-se assim, os ovos ou larvas. As amostras de ovos e larvas foram coletadas com pipetas de Pasteur e transferidas para

ependorfes de 2 mL, os quais foram armazenados em ultrafreezer (-80°C) e destinados à análise de ácidos graxos (conforme item 4.1.2.3)

Concomitantemente ao processo de hipofiseação foram sacrificadas 5 fêmeas de cada tratamento selecionadas ao acaso, com dose excessiva de anestésico (0,1g de benzocaína/L) para a pesagem das gônadas e peso total, e assim foi determinado o Índice Gonadosomático (IGS). Também foi pesado aproximadamente 0,1 grama de ovócitos de cada fêmea, os quais foram contados visando a determinação da quantidade de ovócitos presentes por grama e o número de ovócitos liberados por peso de fêmea (fecundidade).

Após a desova, com a finalidade de acompanhar a recuperação ovariana, foram selecionadas 15 fêmeas/tratamento e mantidas em pequenos tanques-rede, as quais foram sacrificadas ao acaso, periodicamente (a cada 20 dias) com dose excessiva de anestésico (0,1g de benzocaína/L), durante 60 dias para avaliação das gônadas. Como o objetivo foi verificar o efeito dos lipídios provenientes das dietas teste armazenados nos tecidos das fêmeas na recuperação ovariana foi fornecida somente uma dieta sem adição de óleo para todos os animais após a desova. Dessas fêmeas foi calculado o Índice Gonadosomático e o ovário direito foi retirado (Figura 5) e fixado em Bouin por 6 horas, transferido para solução de álcool 70°GL para realização de análises histológicas processadas no Laboratório de Histologia da FZEA/USP, segundo as técnicas rotineiras de inclusão em historesina (GMA – glicol metacrilato) LKB.

Figura 5. Dissecação e retirada dos ovários

4.4. Experimento 2: Desempenho em crescimento

Foram utilizados 192 lambaris em crescimento que apresentavam diferenciação entre os sexos (espículas na nadadeira anal do macho), sendo 120 machos (peso médio $2,58\text{g} \pm 0,13$) e 72 fêmeas (peso médio $4,00\text{g} \pm 0,09$). Os peixes foram separados em um Delineamento Inteiramente Casualizado em Esquema Fatorial 3×2 , ou seja, 6 tratamentos resultantes da combinação de 3 dietas experimentais (SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo; SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão) e 2 sexos (machos e fêmeas).

Para cada tratamento foram utilizadas 4 caixas de polietileno (60cm x 55cm x 50cm) com volume útil de 120L. A densidade de 0,05 peixe/L para fêmeas e 0,083 peixe/L para machos foi baseada em estudos de Navarro et al. (2003 e 2006), Hayashi et al. (2004), em sistema fechado de circulação de água, com fornecimento de oxigênio, fotoperíodo constante (12 horas luz e 12 horas escuro) e temperatura mantida a 27°C. Os parâmetros de qualidade da água: pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram monitorados diariamente com equipamento Horiba, modelo U-10 e amônia e nitrito foram monitorados semanalmente através de “kits” comerciais (Alcon Labcon Test). Os

peixes foram alimentados duas vezes ao dia com suas respectivas dietas extrusadas (33% PB e 4300 kcal de EB) por período de 60 dias e foram calculados os seguintes parâmetros:

- Ganho em Peso (G.P.):

$$G.P.(g) = \text{peso final} - \text{peso inicial}$$

- Conversão Alimentar Aparente (C.A.A.):

$$C.A.A. = \frac{\text{consumo de ração}}{\text{ganho de peso}}$$

- Taxa de Eficiência Protéica (T.E.P.):

$$T.E.P. = \frac{\text{ganho em peso}}{\text{consumo de proteína bruta da dieta}}$$

- Sobrevivência:

$$\text{Sobrevivência}(\%) = \frac{100 \times N_f}{N_i}, \text{ onde :}$$

N_f = número de peixes no final do experimento

N_i = número de peixes no início do experimento

No final do período experimental, exemplares de peixes foram coletados e sacrificados com dose excessiva de anestésico (0,1g de benzocaína/L), os quais foram congelados e armazenados em ultrafreezer (-80°C) até o momento de realização das análises químicas. Os peixes inteiros foram destinados para determinação da composição centesimal (umidade, proteína bruta, matéria mineral e extrato etéreo), segundo metodologia da A.O.A.C. (1995) e somente o filé para determinação do perfil em ácidos graxos de cada tratamento, conforme metodologia descrita anteriormente.

4.5. Experimento 3: Selvagem x Cativeiro

Com a colaboração da APTA – Pólo Centro-Leste/UPD-Pirassununga e com licença ambiental aprovada pelo IBAMA, foram capturadas com auxílio de tarrafa (Figura 6) 30 lambaris fêmeas selvagens no rio Mogi Guaçu, região de Cachoeiras das Emas, Pirassununga/SP no mês de novembro de 2009, época reprodutiva da espécie. ($24,08 \pm 5,43\text{g}$) Paralelamente, foram coletadas 30 fêmeas ($20,91 \pm 2,76\text{g}$) nos tanques do Laboratório de Aquicultura da FZEA/USP, as quais receberam dieta comercial (Laguna® onívoros para alevinos, 2,6mm) com níveis de garantia de 36%PB e 7,00% EE, por 6 meses. Assim, foram constituídos dois tratamentos experimentais: lambaris selvagens e cultivados.

Figura 6. Coleta de lambaris selvagens com tarrafa no Rio Mogi Guaçu, Cachoeira de Emas, Pirassununga/SP

Os animais foram abatidos com dose excessiva de anestésico (0,1 g de benzocaína/L) e de cada exemplar, foi obtido o peso total. Em seguida, os lambaris foram dissecados para retirada das gônadas, fígado (Figura 7 e 8) e músculo. Os ovários e fígados foram pesados, individualmente, para o cálculo do Índice Gônadosomático (IGS) e Hepatossomático (IHS). Em seguida, amostras de músculo,

fígado e ovários foram conservadas em nitrogênio líquido para posteriormente, serem liofilizadas no Laboratório de Produtos Funcionais do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA e embaladas à vácuo. As amostras foram transportadas para o *Dipartimento di Biotecnologie Agrarie* da *Università degli Studi di Firenze*, na Itália, onde foram realizadas as análises laboratoriais.

Figura 7. Dissecação do lambari para coleta de tecidos

Figura 8. Amostras de ovários (A) e fígado (B) de *Astyanax altiparanae*

As amostras liofilizadas dos tecidos foram moídas em almofariz e as análises executadas em seis repetições, sendo considerada réplica um “pool” de 5 amostras de cada tecido. A extração dos lipídios foi realizada pelo método descrito por Folch, Less e Stanley (1957), utilizando-se clorofórmio e metanol como solventes. Utilizou-se rotaevaporador para recuperar os solventes e o lipídio total foi diluído em 10 mL de clorofórmio puro, sendo uma parte destinada para a análise de ácidos graxos e outra para a separação das frações neutra e polar segundo metodologia de Juaneda e Rocquelin (1985). A saponificação e metilação, etapas necessárias para a determinação do perfil de ácidos graxos, foram realizadas segundo Morrison e Smith (1964). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram separados usando cromatógrafo gasoso (CP-select CB for FAME Varian, Middelburg, the Netherlands: 100 m x 0.25 mm i.d.; film thickness 0.20 µm) e a identificação foi realizada comparando-se com o tempo de retenção dos padrões de ácidos graxos.

Condições de análise:

a) Programação de temperatura da coluna e análise:

- 40°C por 4 min., aquecimento de 10°C/min até 120°C permanecendo a esta temperatura por um minuto; aquecimento até 180°C com aumento de 5°C/min, mantido durante 18 minutos; aumento para 200°C em uma taxa de 2°C/min, permanecendo por uma hora; e aumento de 2°C/min e mantida por 19 minutos
- Temperatura do injetor: 270°C
- Temperatura do detector: 300°C
- Velocidade do gás de arraste (H₂): 1mL/min
- SPLIT:1:100
- Volume de injeção: 1µL
- Detector FID (Detector de Ionização de Chama)

b) Padrão utilizado: padrão de ácidos graxos SUPELCO (37 comp. FAME Mix 10mg/mL in CH₂CL₂)

4.6. Delineamento experimental e análises estatísticas

4.6.1. Experimento 1

No experimento de reprodução foi utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 3 tratamentos e 3 réplicas, conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + Di_i + E_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} é o valor observado da ij-ésima repetição que recebeu a dieta i;

μ é a constante comum (média) as observações;

Di_i é o efeito do i-ésimo nível do fator Dieta;

E_{ij} é o erro experimental associado à observação Y_{ij}

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o procedimento GLM do software Statistical Analysis System (SAS, 2002). Quando ocorreram diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey ($P < 0,05$).

4.6.2. Experimento 2

No experimento de desempenho foi utilizado Delineamento Inteiramente Casualizado em Esquema Fatorial 3 x 2, totalizando 6 tratamentos, com 4 repetições cada, seguindo o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + Di_i + S_j + (D \times S)_{ij} + E_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} é a k-ésima resposta do i-ésimo nível do fator Dieta e j-ésimo nível do fator Sexo;

μ é a constante média comum as observações;

Di_i é o efeito do i-ésimo nível do fator Dieta;

S_j é o efeito do j-ésimo nível do fator Sexo;

$(D \times S)_{ij}$ é o efeito da interação entre o i-ésimo nível do fator Dieta e j-ésimo nível do fator Sexo;

E_{ijk} é o erro experimental associado à observação Y_{ijk}

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o procedimento GLM do software Statistical Analysis System (SAS, 2002). Quando ocorreu interação entre os fatores, foram realizados os desdobramentos e a comparação das médias foi realizada pelo teste F e teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.6.3. Experimento 3

Nesse experimento foi aplicado o Delineamento Inteiramente Casualizado, com 2 tratamentos e 6 repetições, conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + E_{ij}$$

Em que:

Y_i é a observação da j-ésima repetição que permaneceu no ambiente i;

μ é a constante média comum as observações;

A_i é o efeito do i-ésimo nível do fator Ambiente;

E_i é o erro experimental associado à observação Y_{ij}

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o procedimento GLM do software Statistical Analysis System (SAS, 2002). A ocorrência de diferenças significativas foi observada pelo teste F ($P < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Óleos

Após centrifugação do resíduo de tilápia observou-se o surgimento de três fases distintas (Figura 9): sólida, aquosa (água e sangue) e viscosa (óleo). O rendimento em óleo de tilápia foi de $10,3553 \pm 0,49\%$ em relação a matéria-prima original.

Figura 9. Resíduos de tilápia do Nilo após centrifugação, a: fase viscosa (óleo); b: fase aquosa (sangue e água); c: fase sólida (resíduos)

Os valores médios de índice de peróxidos e acidez dos óleos utilizados para elaboração das dietas experimentais estão apresentados na Tabela 4. O óleo de resíduos de tilápia apresentou maiores valores de índice de peróxido ($4,3758 \text{ mEqO}_2/\text{kg}$), provavelmente devido a oxidação causada no momento de processamento do resíduo e extração do óleo. O maior índice de acidez foi verificado nas amostras de óleo de salmão ($2,2573 \text{ mg NaOH/g}$), possivelmente devido ao aquecimento no momento do processamento, gerando produtos de degradação voláteis e não voláteis (SHUKLA; PERKINS, 1991).

De maneira geral, as amostras de óleo apresentaram baixos valores de índice de peróxidos e acidez, estando portanto que os mesmos apresentavam-se em bom estado de conservação (íntegros).

Tabela 4. Valores médios de índice de peróxidos e acidez dos óleos experimentais

Amostras	Índice de Peróxidos (mEq O₂.kg⁻¹)	Índice de acidez* (mg NaOH.g⁻¹)
Óleo de soja	3,1700 ± 0,22	1,3587 ± 0,02
Óleo de tilápia	4,3758 ± 0,10	1,8066 ± 0,05
Óleo de salmão	1,1634 ± 0,12	2,2573 ± 0,02

* Ácidos Graxos Livres em oléico

5.2. Perfil de ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais

Os perfis de ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios (g.100g⁻¹) dos perfis em ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais

Ácidos Graxos	Óleos			Dietas Fareladas			Dietas Extrusadas		
	SO	TI	SA	SO	TI	SA	SO	TI	SA
C14:0	0,000 ^c	2,290 ^b	2,915 ^a	0,030 ^b	0,180 ^a	0,220 ^a	0,040 ^c	0,155 ^b	0,215 ^a
C15:0	0,000 ^c	0,145 ^b	0,290 ^a	0,010 ^b	0,015 ^{ab}	0,030 ^a	0,010	0,015	0,020
C16:0	9,365 ^c	19,265 ^a	12,525 ^b	1,355	1,995	1,580	1,430 ^b	1,830 ^a	1,490 ^b
C16:1n-7	0,000 ^c	4,490 ^a	3,820 ^b	0,050 ^b	0,325 ^a	0,280 ^a	0,075 ^b	0,300 ^a	0,280 ^a
C17:0	0,100 ^b	0,190 ^b	0,290 ^a	0,000 ^b	0,030 ^a	0,030 ^a	0,025	0,020	0,030
C17:1	0,000 ^c	0,190 ^b	0,380 ^a	0,000	0,015	0,015	0,000 ^b	0,005 ^{ab}	0,020 ^a
C18:0	3,060 ^c	5,020 ^a	3,970 ^b	0,360	0,465	0,420	0,420	0,460	0,390
C18:1n-9	23,420 ^b	38,670 ^a	21,555 ^c	2,295 ^b	3,105 ^a	2,280 ^b	2,620 ^b	3,290 ^a	2,425 ^b
C18:2n-6	52,725 ^a	13,960 ^b	11,040 ^c	3,600 ^a	1,875 ^b	1,935 ^b	3,600 ^a	2,545 ^b	2,375 ^b
C20:0	0,380 ^a	0,190 ^b	0,190 ^b	0,050 ^a	0,030 ^b	0,030 ^b	0,055	0,045	0,040
C20:1n-11	0,335 ^c	1,865 ^b	3,150 ^a	0,030 ^c	0,115 ^b	0,210 ^a	0,040 ^c	0,110 ^b	0,190 ^a
C18:3n-3	5,165 ^a	0,760 ^c	2,005 ^b	0,245 ^a	0,105 ^b	0,180 ^{ab}	0,205	0,120	0,200
C20:2n-6	0,000 ^c	0,960 ^b	1,910 ^a	0,010 ^c	0,050 ^b	0,105 ^a	0,040 ^c	0,050 ^b	0,100 ^a
C22:0	0,570 ^a	0,100 ^b	0,100 ^b	0,055 ^a	0,015 ^b	0,030 ^b	0,080	0,025	0,025
C20:3n-6	0,000 ^c	0,760 ^a	0,190 ^b	0,000 ^b	0,025 ^a	0,015 ^{ab}	0,000 ^b	0,035 ^a	0,010 ^b
C20:4n-6	0,000 ^c	0,760 ^a	0,570 ^b	0,000	0,030	0,025	0,010 ^b	0,045 ^a	0,040 ^a
C22:2n-6	0,000 ^b	0,000 ^b	1,290 ^a	0,000 ^b	0,000 ^b	0,060 ^a	0,000 ^b	0,000 ^b	0,055 ^a
C20:5n-3	0,000 ^b	0,145 ^b	6,930 ^a	0,000 ^b	0,010 ^b	0,295 ^a	0,010 ^b	0,015 ^b	0,355 ^a
C22:5n-3	0,000 ^c	0,000 ^b	4,210 ^a	0,000 ^b	0,020 ^b	0,170 ^a	0,000 ^b	0,010 ^b	0,205 ^a
C22:6n-3	0,000 ^b	0,480 ^b	11,760 ^a	0,020 ^b	0,040 ^b	0,430 ^a	0,020 ^b	0,050 ^b	0,565 ^a
ΣSAT	13,675 ^c	27,770 ^a	20,270 ^b	1,915	2,745	2,350	2,125 ^b	2,570 ^a	2,220 ^{ab}
ΣMONO	23,755 ^c	45,410 ^a	29,780 ^b	2,405 ^b	3,535 ^a	2,830 ^b	2,770 ^b	3,670 ^a	2,940 ^b
ΣPOLI	57,980 ^a	18,070 ^c	40,150 ^b	3,855 ^a	2,180 ^b	3,245 ^{ab}	3,820 ^a	2,840 ^b	3,910 ^a
Σn-6	52,820 ^a	16,440 ^b	14,960 ^c	3,590 ^a	2,005 ^b	2,140 ^b	3,590 ^a	2,645 ^b	2,570 ^b
Σn-3	5,165 ^b	1,650 ^c	25,095 ^a	0,265 ^b	0,175 ^b	1,100 ^a	0,230 ^b	0,195 ^b	1,345 ^a
n-3/n-6	0,130 ^b	0,099 ^b	1,677 ^a	0,074 ^b	0,084 ^b	0,511 ^a	0,064 ^b	0,073 ^b	0,523 ^a

SO= óleo de soja; TI= óleo de tilápia; SA= óleo de salmão. Médias seguidas letras diferentes nas linhas, dentro dos grupos (óleo, dietas fareladas e dietas extrusadas), diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

As dietas SO, TI e SA continham teores próximos de lipídios (entre 8,8 e 9,1%). O óleo de resíduo de tilápia apresentou o maior teor ($p < 0,05$) de ácidos graxos saturados, expressos em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (27,77), seguido pelo óleo de resíduo de salmão (20,27) e óleo de soja (13,675). O ácido graxo saturado presente em maior quantidade foi o ácido palmítico (C16:0), nos três óleos, situação refletida nas dietas elaboradas com os mesmos óleos, tanto nas extrusadas como nas fareladas. A mesma situação ocorreu com o total de ácidos graxos monoinsaturados, sendo o principal deles o ácido oléico (C18:1n-9), também presente em maior quantidade ($p < 0,05$) no óleo de tilápia ($38,67\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). O óleo de soja continha o nível mais elevado de polinsaturados ($57,98\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), seguido do óleo de salmão ($40,15\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e do óleo de tilápia ($18,07\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). Embora os teores de ácidos graxos polinsaturados fossem diferentes entre os óleos de soja e de salmão, as dietas contendo estes óleos apresentaram níveis próximos ($p > 0,05$), provavelmente devido à contribuição de outros ingredientes.

O ácido linoléico (C18:2n-6) alcançou o nível mais elevado no óleo de soja ($52,725\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), e igualmente nas dietas, tanto fareladas como extrusadas. A concentração de ácidos graxos n-3 foi significativamente maior ($p < 0,05$) no óleo de salmão ($25,095\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), quando comparado aos óleos de soja ($5,165\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e de tilápia ($1,65\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). Os maiores teores de C20:5n-3 (EPA) e C22:6n-3 (DHA), foram encontrados no óleo de salmão ($6,93\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $11,76\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente), o que se refletiu nas rações.

O tipo de processamento afetou quantitativamente apenas alguns ácidos graxos. O ácido linoléico da ração com óleo de salmão foi maior ($p < 0,05$) na ração extrusada; o ácido C18:1n-9 foi maior na ração extrusada com óleo de tilápia, assim como o teor de moninsaturados foi maior ($p < 0,01$) na extrusada com óleo de tilápia. Embora não esteja determinada a exigência do *Astyanax altiparanae*, quanto ao teor de ácidos graxos essenciais, os valores encontrados de C18:2n-6 nos dois tipos de rações satisfazem as necessidades da tilápia do Nilo (NRC, 1993), espécie de água doce, como o lambari.

5.3. Experimento 1: Desempenho Reprodutivo

A reprodução foi realizada no mês de dezembro de 2008 e a desova aconteceu seis horas após a segunda hipofiseação com temperatura média da água de $25,2 \pm 1,44^{\circ}\text{C}$. Os ovos de lambari (Figura 10) apresentaram característica demersal, coloração amarelada e semi-aderentes, dados que condizem com os apresentados por Sato et al. (2006).

Pesquisas em ambiente natural foram conduzidas com a finalidade de se estudar o comportamento reprodutivo e identificar a época de reprodução e a maturação gonadal de algumas espécies do gênero *Astyanax*. Gennari Filho e Braga (1996) estudaram o tipo de desova de duas espécies de lambari e sugeriram a desova parcelada para o *Astyanax bimaculatus* devido às variações verificadas entre o número e diâmetro dos ovócitos. Entretanto, os autores observaram que para o *Astyanax schubarti* ocorre o amadurecimento de ovócitos em um único lote e com determinado diâmetro são eliminados, sugerindo desova total.

O tipo de desova parcelada também foi evidenciado para o *A. bimaculatus* por Ihering e Azevedo (1936), Agostinho et al. (1984), Andrade et al. (1985), Marcon (2008) e somente do tipo desova total por Nomura (1975). Agostinho et al. (1984) constataram que a desova de *Astyanax bimaculatus* estendeu-se de novembro a fevereiro e que o tamanho no qual 50% das fêmeas iniciaram o processo reprodutivo foi de 78mm de comprimento total e que aos 95mm 100% da população total de fêmeas estavam aptas a participar da reprodução.

Barbieri (1992) verificou que o período de reprodução de lambari (*Astyanax scabripinnis paranae*) está compreendido entre os meses de novembro e janeiro e que a maturação gonadal acontece quando os peixes atingem o primeiro ano de vida com comprimento a partir de 67,5 mm. Da mesma forma, Santos et al. (1991) verificaram que *Astyanax bimaculatus* apresentaram aumento acentuado do valor do Índice Gonadossomático e peso médio dos ovários a partir de outubro, e o pico máximo foi atingido no mês de dezembro, com queda brusca em janeiro. Os autores constataram que a porcentagem de indivíduos maduros na primavera é maior que nas demais estações e concluíram que a reprodução do lambari é descontínua, periódica, anual e mais acentuada na primavera e verão, especialmente no mês de dezembro.

Figura 10. Ovo de lambari (aumento 80X sob esteromicroscópio ZEISS), oito horas após a desova

Tabela 6. Valores médios dos parâmetros reprodutivos de lambaris

Parâmetros	Dietas Experimentais			Estatística	
	SO	TI	SA	F	CV
Volume total de ovos (mL)	52,67	75,00	58,33	1,34 ^{ns}	29,35
Volume de ovos mL/ g de fêmea	3,92	4,75	4,46	2,52 ^{ns}	18,27
Número de ovos/mL	1003,56 ^a	942,22 ^b	710,78 ^c	5,86 ^{**}	21,61
Número de ovos/ g de fêmea	3875,80	4473,20	3519,90	1,61 ^{ns}	25,19
Taxa de Fertilização (%)	73,44 ^b	84,18 ^a	80,67 ^a	7,56 ^{**}	7,51
Diâmetro médio dos ovos (mm)	1,15 ^b	1,23 ^a	1,19 ^{ab}	9,97 ^{**}	2,88
Taxa de Eclosão (%)	98,08	95,15	98,43	3,45 ^{ns}	2,99
Comprimento médio da larva (mm)	2,58 ^b	2,66 ^a	2,68 ^a	5,90 ^{**}	2,57

SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo, SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão

médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey ** (P<0,01)

Observou-se que a desova proveniente dos animais alimentados com a dieta contendo óleo de tilápia (TI) apresentou volume total de ovos superior (75 mL), porém não diferiu significativamente dos tratamentos com óleo de soja (SO) (52,67 mL) e com óleo de salmão (SA) (58,33 mL), possivelmente pela grande variação entre as réplicas de cada tratamento (Tabela 6). Foi verificada uma pequena diferença das médias de peso ($14,58 \pm 2,41\text{g}$) entre as fêmeas selecionadas para a reprodução, uma vez que o critério principal foi a presença de características secundárias de maturação ovariana, como ventre abaulado e papila genital saliente e avermelhada. Para que os resultados não fossem prejudicados, foi estimado o volume de ovos produzidos por grama de fêmea e, constatou-se que não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais. Porém, as fêmeas alimentadas com dieta contendo óleos de tilápia e salmão apresentaram menores ($P < 0,05$) quantidades de ovos por mililitro (942,22 e 710,78 ovos/mL, respectivamente) quando comparados com os grupos alimentados com óleo de soja (1003,56 ovos/mL), uma vez que ovos de diâmetros maiores ocupam mais espaço em um mesmo volume em relação com ovos de diâmetros menores. Assim, verificou-se que os ovos provenientes das fêmeas que foram alimentadas com óleo de tilápia e salmão apresentaram maiores diâmetro (1,23 e 1,19 mm, respectivamente) e conseqüentemente menor número de ovos por mililitro (Tabela 6).

Foram observadas maiores taxas de fertilização nas desovas provenientes de peixes alimentados com óleo de tilápia e salmão (84,18 e 80,67%, respectivamente) em relação a desova dos peixes alimentados com óleo de soja (73,44%) ($P < 0,01$). Sink e Lochmann (2008) verificaram que a suplementação de bagres (*Ictalurus punctatus*) com 10% de óleo de peixe aumentou o sucesso das desovas, volume total dos ovos, peso dos ovos individuais, ovos por desova, taxa de eclosão e sobrevivência larval em comparação com dieta controle com 4% de óleo de peixe. Os autores verificaram que a inclusão de 10% de gordura de aves proporcionou resultados similares a dieta com 10% de óleo de peixe, com exceção da composição em ácidos graxos dos ovos.

Para taxa de eclosão foram observados valores ótimos para os grupos experimentais com variação de 95,15% (TI) a 98,43% (SA) e não foram verificadas diferenças significativas ($P > 0,05$).

Os ovos e larvas recém-eclodidas de *Astyanax altiparanae* apresentaram tamanhos semelhantes para ovos (0,95 a 1,40mm) e larvas (2,20 a 3,10mm) aos apresentados por Sato et al. (2006) para *Astyanax bimaculatus*, que conferiram tamanho médio de 1,14 e 2,54 mm para ovos e larvas, respectivamente. Observa-se na Figura 11 que a maior freqüência de ovos situa-se na faixa entre 1,20 a 1,25mm de diâmetro nos tratamentos SO (óleo de soja) e SA (óleo de salmão). O óleo de tilápia (TI) promoveu maior freqüência de ovos com diâmetro de 1,30mm.

Figura 11. Frequência (%) dos diâmetros dos ovos de lambari. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão

Os ovos provenientes dos peixes alimentados com óleo de tilápia (TI) apresentaram valores médios de diâmetros superiores (1,23mm) ($P < 0,01$) aos do tratamento SO (1,15mm) e não diferiram significativamente ($P > 0,01$) do tratamento SA (1,19mm). Segundo Brooks, Tyler e Sumpter (1997), as condições dos reprodutores de peixes, como idade, qualidade e quantidade de alimento ingerido, fisiologia, critérios de seleção e condições ambientais podem influenciar o tamanho dos ovos. Porém, no presente experimento, os reprodutores estavam alocados nas mesmas condições ambientais, tendo como única diferença as dietas estudadas. Assim, pode-se concluir que as diferenças significativas apresentadas (Tabela 6) são exclusivamente devido às dietas experimentais.

Figura 12. Larva de lambari recém eclodida sem pigmentação, com trato gastrointestinal fechado e grande reserva vitelínica

Segundo Nakatani et al. (2001) a maioria das larvas de água doce eclode com boca e mandíbulas ainda não formadas, olhos despigmentados, saco vitelínico grande e nesse período, poucos melanóforos são visualizados, caracterizado por uma larva transparente, fato que foi observado nesse trabalho (Figura 12), evidenciando, grande dependência de material endógeno. Além disso, as larvas recém-eclodidas não apresentaram controle hidrostático, devido ausência de bexiga natatória.

As larvas apresentaram comprimentos médios totais variando de 2,20 a 3,10mm (Figura 13), sendo que para o tratamento SO a maior frequência de distribuição esteve entre os valores 2,60 e 2,70mm, enquanto que para os tratamentos TI e SO houve maior frequência de larvas nos comprimentos 2,70 e 2,80mm. Assim, os valores médios das larvas provenientes de fêmeas alimentadas com óleo de tilápia e salmão apresentaram maiores comprimentos (2,66 e 2,68mm, respectivamente) ($P < 0,01$) do que as larvas provenientes de fêmeas alimentadas com óleo de soja (2,58mm) (Tabela 6).

Segundo Morley et al. (1999) ovos maiores de peixes tendem a produzir larvas maiores, com maior quantidade de reservas vitelínicas, o que as tornam mais

preparadas energeticamente para atravessar o período crítico de metamorfose e ficam menos susceptíveis às condições adversas do ambiente.

Em estudo com algumas espécies de ciclídeos neotropicais, Coleman e Galvani (1998) observaram relação direta entre o tamanho do ovo, comprimento das larvas eclodidas e o tamanho de saco vitelínico, inferindo que pequenas diferenças no tamanho dos ovos têm grande significância biológica na história de vida das larvas, pois, as larvas maiores estarão mais aptas para escapar de predadores e explorar ambientes. Por outro lado, Zhukinskiy e Gosh (1988) e Bonislawski et al. (2001) ressaltam que ovos muito grandes podem ter suas taxas de sobrevivência e crescimento diminuídas nos estágios iniciais de desenvolvimento pela menor eficiência no transporte de oxigênio devido a maior razão entre superfície e volume do ovo, fato que não deve ter ocorrido nesse trabalho, devido as altas taxas de eclosão apresentadas (Tabela 6).

Figura 13. Frequência (%) dos comprimentos das larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão

No dia da reprodução, dez fêmeas reprodutoras de cada tratamento foram amostradas para análises do perfil de ácidos graxos musculares, cujos resultados encontram-se na Tabela 7. O teor de ácidos graxos saturados no músculo das

reprodutoras de lambari foram maiores ($p < 0,05$) nos peixes alimentados com óleo de salmão, bem como o teor de monoinsaturados. De acordo com Giménez et al (2008), os ácidos graxos saturados e monoinsaturados são consumidos durante o crescimento da maioria das espécies de peixes, como a principal fonte de energia e os ácidos graxos polinsaturados estão geralmente envolvidos na integridade funcional e fluidez das membranas celulares, fato que deve ter ocorrido também com os lambaris deste estudo, haja visto a semelhança de concentração dos saturados ($1,615$ a $1,855 \text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) e monoinsaturados ($2,07$ a $2,315 \text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) nos músculos das fêmeas reprodutoras, embora houvesse grande variação nas concentrações destes ácidos graxos nas dietas correspondentes. Quanto ao teor de ácidos graxos polinsaturados, o maior acúmulo ocorreu nos músculos de reprodutoras alimentadas com a dieta SO (óleo de soja), seguida da dieta contendo óleo de salmão, diferentemente do que havia nas dietas, ou seja, maior teor nas dietas SA (salmão) e SO (soja) seguida pela dieta TI (tilápia).

Estudos têm demonstrado que tanto os ácidos graxos da série n-6 como o da série n-3 são necessários para os reprodutores e larvas (BELL; SARGENT, 2003; BESSONART et al., 1999; FURUITA et al., 2003). Analisando-se as quantidades de ácidos graxos das séries n-3, n-6, e a relação n-3/n-6 das dietas e o que foi acumulado nos músculos das reprodutoras, nota-se situação bastante semelhante entre as mesmas, ou seja: maiores teores de n-3 nas dietas e fêmeas com óleo de salmão, maiores níveis de n-6 nas dietas e fêmeas com óleo de soja e maior relação n-3/n-6 nas dietas e fêmeas com óleo de salmão. O aumento na fecundidade, quantidade de ovos, fertilização e sucesso da taxa de eclosão tem sido associado com a concentração de ácidos graxos da série n-3 na dieta das matrizes (IZQUIERDO et al., 2001; SARGENT et al., 2002).

Tabela 7. Valores médios (g.100g⁻¹) do perfil em ácidos graxos do músculo das reprodutoras, ovos e larvas de lambari

Ácidos Graxos	Reprodutoras			Ovos			Larvas		
	SO	TI	SA	SO	TI	SA	SO	TI	SA
C14:0	0,050 ^c	0,080 ^b	0,120 ^a	0,100 ^c	0,135 ^b	0,170 ^a	0,090 ^c	0,110 ^b	0,130 ^a
C15:0	0,010 ^b	0,010 ^b	0,020 ^a	0,020 ^b	0,020 ^b	0,030 ^a	0,020 ^b	0,020 ^b	0,030 ^a
C16:0	1,170 ^c	1,240 ^b	1,310 ^a	3,050 ^b	2,850 ^b	3,345 ^a	2,950 ^b	2,755 ^c	3,190 ^a
C16:1	0,120 ^c	0,200 ^b	0,230 ^a	0,205 ^c	0,240 ^b	0,290 ^a	0,170 ^c	0,200 ^b	0,210 ^a
C17:0	0,020	0,020	0,020	0,040 ^b	0,030 ^c	0,050 ^a	0,040	0,030	0,045
C 17:1	0,010	0,010	0,010	0,020 ^b	0,020 ^b	0,030 ^a	0,015	0,020	0,030
C18:0	0,355 ^a	0,305 ^b	0,375 ^a	0,845 ^b	0,915 ^a	0,940 ^a	0,925 ^b	0,930 ^b	1,020 ^a
C18:1n-9	1,905 ^{ab}	1,855 ^b	2,005 ^a	2,925	2,960	2,910	2,625 ^a	2,655 ^a	2,420 ^b
C18:2n-6	1,610 ^a	0,915 ^c	1,070 ^b	1,085 ^a	0,525 ^c	0,845 ^b	0,965 ^a	0,470 ^c	0,685 ^b
C18:3n-6	0,030	0,035	0,020	0,050 ^a	0,030 ^b	0,015 ^b	0,040 ^a	0,020 ^b	0,020 ^b
C18:3n-3	0,080 ^a	0,040 ^c	0,070 ^b	0,030 ^b	0,010 ^c	0,040 ^a	0,030 ^{ab}	0,010 ^b	0,050 ^a
C 20:0	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
C20:1n-9	0,035 ^b	0,050 ^b	0,070 ^a	0,090	0,110	0,120	0,085	0,075	0,110
C20:2	0,025	0,025	0,030	0,080 ^a	0,060 ^b	0,085 ^a	0,090 ^a	0,060 ^b	0,090 ^a
C20:4n-6	0,060 ^a	0,050 ^b	0,030 ^c	0,285 ^a	0,220 ^b	0,150 ^c	0,320 ^a	0,225 ^b	0,165 ^c
C20:3n-3	0,070 ^a	0,060 ^a	0,035 ^b	0,640 ^a	0,630 ^a	0,185 ^b	0,820 ^a	0,680 ^b	0,240 ^c
C20:5n-3	0,020 ^b	0,010 ^c	0,090 ^a	0,065 ^b	0,060 ^b	0,260 ^a	0,070 ^b	0,035 ^c	0,275 ^a
C22:6n-3	0,080 ^b	0,060 ^c	0,210 ^a	0,550 ^b	0,485 ^b	1,185 ^a	0,720 ^b	0,530 ^c	1,440 ^a
total	5,850 ^a	5,200 ^b	5,945 ^a	10,755 ^{ab}	10,120 ^b	11,110 ^a	10,730 ^a	9,645 ^b	10,610 ^a
ΣSAT	1,615 ^b	1,665 ^b	1,855 ^a	4,065 ^b	3,960 ^b	4,545 ^a	4,035 ^b	3,855 ^b	4,425 ^a
ΣMONO	2,070 ^b	2,115 ^b	2,315 ^a	3,240 ^a	3,330 ^a	3,350 ^a	2,895 ^a	2,950 ^a	2,770 ^b
ΣPOLI	1,975 ^a	1,195 ^c	1,555 ^b	2,785 ^a	2,020 ^b	2,765 ^a	3,055 ^a	2,030 ^b	2,965 ^a
Σn-3	0,280 ^b	0,205 ^c	0,425 ^a	1,285 ^b	1,185 ^b	1,670 ^a	1,640 ^b	1,255 ^c	2,005 ^a
Σn-6	1,700 ^a	1,000 ^c	1,120 ^b	1,420 ^a	0,775 ^c	1,010 ^b	1,325 ^a	0,715 ^c	0,870 ^b
n-3/n-6	0,165 ^c	0,205 ^b	0,380 ^a	0,905 ^b	1,529 ^a	1,653 ^a	1,238 ^c	1,755 ^b	2,304 ^a

SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo, SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão

Médias seguidas letras diferentes nas linhas, dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

É sabido que baixos níveis de n-3 na dieta de reprodutores diminuem a qualidade do ovo e da larva. Entretanto, o excesso de ácidos graxos da série n-3 pode causar um efeito negativo na produção de ovos e na qualidade e sobrevivência larval. Li et al. (2005) analisaram o efeito da inclusão de diferentes níveis de n-3 (1,12; 2,40; 3,70; 5,85%) na dieta de reprodutores de *Plectorhynchus cinctus* em relação a desova e composição do perfil de ácidos graxos de ovos e larvas. O conteúdo de ácidos graxos nos ovos e larvas esteve diretamente relacionado às dietas fornecidas, no entanto, a deficiência ou excesso em relação ao conteúdo de n-3 da dieta apresentaram efeito negativo na qualidade dos ovos e larvas, sendo que resultados positivos nas desovas foram obtidos com os conteúdos de 2,40 e 3,70%, respectivamente. No presente estudo, os ovos e larvas oriundos de peixes alimentados com óleo de salmão apresentaram os maiores valores em relação a concentração de n-3 (Figura 14) quando comparado aos demais tratamentos ($P < 0,05$) o que resultou em excelente desempenho reprodutivo para as características estudadas.

Figura 14. Concentração total de ácidos graxos n-3 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Furuita et al. (2007) avaliaram o efeito de ácidos graxos das séries n-3 e n-6 nas dietas de reprodutores suplementadas com uma fonte de óleo vegetal (milho), óleo de peixe e com a mistura desses, em relação ao perfil lipídico e desempenho reprodutivo

de *Anguilla japonica*, espécie de peixe de água doce cultivadas mais importante no Japão. Foi verificado que tanto os ácidos graxos polinsaturados n-3 como n-6 são necessários na dieta desses reprodutores, porém foi constatado melhores resultados em relação a qualidade dos ovos e composição do perfil de ácidos graxos dos ovos e larvas para o grupo de peixe que recebeu dieta suplementada com a mistura de óleo vegetal e óleo de peixe.

A substituição de óleo de peixe marinho por óleos vegetais tem um impacto profundo na composição dos ácidos graxos nos tecidos de peixes, aumentando o ácido linoléico e linolênico e reduzindo o EPA e DHA que estão relacionados com a síntese de lipoproteínas (CABALLERO et al., 2002) e que podem prejudicar os índices reprodutivos. De fato, neste trabalho com lambari, notou-se também o maior acúmulo de polinsaturados n-6 nas fêmeas que receberam dietas com óleo de soja (SO) (Figura 15), conferindo os menores valores na relação n-3/n-6 (Figura 16), o que pode ter prejudicado o desempenho reprodutivo destas reprodutoras em relação a taxa de fertilização e comprimento da larva que foi significativamente menor ($P < 0,05$) em relação aos peixes que receberam óleo de tilápia e/ou salmão na dieta.

Figura 15. Concentração total de ácidos graxos n-6 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 16. Relação n-3/n-6 no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Ácidos graxos de cadeias altamente insaturadas como ácido araquidônico (AA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) são importantes componentes estruturais e fisiológicos das membranas celulares, e participam de importantes funções, como permeabilidade e atividade enzimática (LEE, 2001). Os músculos das reprodutoras de lambari alimentadas com as dietas experimentais apresentaram baixos teores dos ácidos graxos EPA e DHA, os quais parecem ter sido mobilizados e estocados nos ovários, uma vez que os ovos apresentaram concentrações mais elevadas nos tratamentos do que nos músculos de suas respectivas reprodutoras. Observa-se, em especial, que os músculos das fêmeas arraçadas com a dieta que continha óleo de salmão apresentaram baixos valores de EPA e DHA (Figuras 17 e 18) como as fêmeas dos demais tratamentos, mesmo apresentando as maiores concentrações desses ácidos graxos conferidas na dieta com óleo de salmão. Porém, verificou-se que os ovos e larvas provenientes das fêmeas alimentadas com as dietas que continham óleo de salmão apresentaram maiores teores de DHA e EPA em relação aos demais tratamentos, confirmando a transferência e armazenamento desses ácidos graxos nos ovários de lambari para posterior reserva e utilização no desenvolvimento e crescimento do embrião e larva. Além disso, levanta-se a hipótese de que os peixes

alimentados com dieta com óleo de soja e tilápia não apresentaram quantidade suficiente de EPA e DHA em suas dietas para serem transportados aos ovários e conseqüentemente ovos e larvas, o que pode ter diminuído o desempenho da prole como apresentado na Tabela 7. Assim, verifica-se que a composição lipídica dos ovos pode ser manipulada pela composição da dieta materna (WATANABE, 1982).

Figura 17. Concentração de EPA no músculo das reprodutoras, ovos e larvas SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 18. Concentração de DHA no músculo das reprodutoras, ovos e larvas. SO = dieta elaborada com óleo de soja; TI = dieta elaborada com óleo de tilápia; SA = dieta elaborada com óleo de salmão. Letras diferentes nas barras dentro de cada grupo (reprodutoras, ovos e larvas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Nas Figuras 17 e 18, verificam-se que os teores de EPA e DHA se encontram em ascensão entre reprodutoras, ovos e larvas, o que denota a importância e o recrutamento dos ácidos graxos de cadeia altamente insaturada que estão presentes em maiores quantidades nos ovos em relação ao músculo da reprodutora e nas larvas em relação aos ovos. Na Figura 17 observa-se que a concentração de EPA aumentou em 2,27; 2,0; 26,0 vezes entre os tratamentos SO, TI e SA, respectivamente, nos ovos em relação a quantidade presente no músculo das reprodutoras. E em relação ao DHA o acréscimo foi de 6,87; 8,08; 5,64 vezes nos ovos (Figura 18). Esses aumentos se estenderam para as larvas, o que permite mais uma vez afirmar que o EPA e o DHA são extremamente necessários para o desenvolvimento de ovos e larvas dessa espécie. Essa evidência está de acordo com trabalhos de Furuita et al. (2002, 2000, 1999), Takeuchi (1997), Watanabe (1993) e Tocher et al. (1985) que também encontraram altos níveis de n-3, em particular o DHA, sugerindo a importância no desenvolvimento embrionário e larval de peixes. Similarmente ao acontecido com o lambari, Sink e Locchman (2008) verificaram que EPA e DHA ficaram preferencialmente

retidos nos ovos de *Ictalurus punctatus*, evidenciando também o requerimento do n-3 no desenvolvimento dos ovos dessa espécie de água doce.

O maior teor de ácidos graxos saturados ($P < 0,05$) foi encontrado nos ovos cujos progenitores ingeriram dieta contendo óleo de salmão, e sem significância entre os ovos oriundos dos peixes alimentados com as dietas com óleo de tilápia e soja (Tabela 7). O ácido graxo saturado presente nos ovos de lambaris em maior quantidade foi o ácido palmítico (C16:0), situação semelhante ao que ocorreu com as dietas consumidas pelos reprodutores de lambari que deram origem a estes ovos.

Os teores de ácidos graxos monoinsaturados nos ovos de lambari não diferiram significativamente entre os tratamentos ($P > 0,05$), sendo o mais importante o ácido oléico com teores acima de $2,9\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ nos ovos. O perfil dos ácidos graxos polinsaturados seguiu o que foi encontrado nas dietas; maiores teores nos ovos de dietas com óleo de soja e salmão (estes dois muito próximos entre si), e o menor valor, nas dietas com óleo de tilápia. Os níveis mais expressivos de ácidos graxos polinsaturados encontrados nos ovos, foram o linoléico (C18:2n-6) e o eicosatrienóico (C20:3n-3). Assim como ocorreu com as rações, os teores mais elevados de ácidos graxos n-3, foram encontrados nos ovos de progenitores alimentados com dietas contendo óleo de salmão (Tabela 7). Observa-se então, que foram mobilizados para os ovos de lambari, os ácidos graxos de maior cadeia carbônica e maior insaturação, que estavam presentes nas dietas.

A relação entre n-3/n-6 nos ovos foi significativamente maior ($P < 0,05$) nos ovos dos reprodutores alimentados com dietas contendo óleo de tilápia ou salmão, do que em ovos de reprodutores arraçoados com a dieta com óleo de soja (Figura 16 e Tabela 7). Sink e Locchmann (2008) verificaram taxa de eclosão e sobrevivência larval satisfatórias em ovos com relação n-3/n-6 de 0,8 a 1,5 enquanto a redução do desempenho ocorreu em ovos com n-3/n-6 de 0,5 a 0,6. No presente trabalho, todos os valores da relação n-3/n-6 dos ovos estiveram acima de 0,8 (0,905 a 1,68) e os valores de taxa de eclosão foram satisfatórios para todos os tratamentos (95,15 a 98,43%). A análise do perfil de ácidos graxos das larvas dos lambaris (Tabela 7) revelou valores próximos aos encontrados nos ovos em relação ao teor de ácidos graxos saturados, ou seja, maiores valores ($P < 0,05$) nas larvas cujos progenitores receberam dietas com

óleo de salmão. Para a soma de monoinsaturados não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos e em relação aos polinsaturados, encontraram-se níveis mais elevados para as larvas originários dos reprodutores que foram alimentados com as dietas com óleo de soja e salmão. Os polinsaturados mais relevantes foram o ácido linoléico e docosahexaenóico, da mesma forma como aconteceu nos ovos, sendo o primeiro maior na dieta com óleo de soja e o segundo, maior nas larvas da dieta com óleo de salmão.

A somatória dos ácidos graxos da família n-3 presentes nas larvas foi significativamente maior no tratamento SA, com óleo de salmão, e os teores de ácidos graxos da família n-6, maior nas larvas da dieta com óleo de soja. A relação n-3/n-6 foi semelhante: valores mais elevados para ovos e larvas (1,653 e 2,304, respectivamente) da dieta com óleo de salmão e menores valores para ovos e larvas (0,905 e 1,238, respectivamente) da dieta com óleo de soja.

Os peixes onívoros de água doce, não exigem uma fonte dietética de ácidos graxos altamente insaturados devido a habilidade em alongar e dessaturar ácidos graxos de cadeia longa (EL SAYED et al., 2005). Sink e Locchmann (2008) afirmam que o potencial do *Ictalurus punctatus* alimentados com dieta sem óleo de peixe marinho, em produzir ovos com altos níveis de DHA, somente poderá ser realizada quando houver concentrações suficientes de 18:3n-3 na dieta.

No presente estudo, a dieta com óleo de soja apresentou a mais elevada concentração de 18:3n-3 (0,245 e 0,205) e ausência de EPA e somente 0,02 de DHA, porém verifica-se o aumento para 0,03; 0,65; 0,07 de EPA e 0,08; 0,55; 0,72 DHA nas reprodutoras, ovos e larvas, respectivamente, sugerindo a possibilidade do lambari em alongar e dessaturar ácidos graxos com 18 carbonos na cadeia.

As reprodutoras arraçadas com a dieta contendo óleo de soja podem ter sido prejudicadas, principalmente, em relação a taxa de fertilização, diâmetro dos ovos e comprimento das larvas pelo excesso de ácidos graxos da série n-6 (Figura 15 e Tabela 7) ou por não haver quantidade suficiente de 18:3n-3 para ser convertida em ácidos graxos de cadeia altamente insaturada como DHA e EPA.

Assim, do ponto de vista reprodutivo, acredita-se que a inclusão de uma fonte de ácido graxo da cadeia longa, especialmente o DHA e EPA, como o óleo de salmão,

possa proporcionar melhores resultados quando comparados com dieta contendo apenas óleo vegetal. Outra opção seria testar misturas de fonte vegetal e animal.

5.3.1. Estudo da Fêmea na desova e após desova

Os ovários de peixes do gênero *Astyanax* seguem os padrões descritos para a maioria dos teleósteos, caracterizados como estruturas pares, alongados e foliáceos, sofrendo modificações na espessura, volume e coloração durante as diferentes fases do ciclo reprodutivo, conforme observado por Marcon (2008) em *Astyanax bimaculatus* e por Melo et al. (2005) em *Astyanax scabripinnis*. Histologicamente, os ovários se apresentaram envolvidos por uma camada de tecido conjuntivo denso, fibras musculares lisas e vasos sanguíneos, conhecida como túnica albugínea (MAZZONI, 2009). Desse tecido aparecem as projeções para o interior do órgão, formando as lamelas ovulíferas (Figura 19) que sustentam as células germinativas em suas diferentes fases de desenvolvimento (ZAIDEN, 2000).

O desenvolvimento dos ovócitos é semelhante nos teleósteos, com variações na composição e distribuição do vitelo, no grau de desenvolvimento dos alvéolos corticais e no desenvolvimento das camadas envoltórias (MELO et al., 2005). Na literatura, podem ser encontradas diferentes classificações em relação às fases de desenvolvimento dos ovários conforme critérios adotados pelo(s) autor(es). No presente trabalho, os ovócitos de *Astyanax altiparanae* foram divididos em quatro estádio (ovócito jovem, ovócito pré-vitelogênico, ovócito com vesículas corticais e ovócito vitelogênico) de acordo com critérios de classificação proposto por Bazzoli e Rizzo (1990) para *Astyanax bimaculatus* e adaptados para *Astyanax scabripinnis* por Melo et al. (2005), conforme abaixo:

Ovócitos Jovens (OV1): apresentam citoplasma fortemente basófilo e homogêneo, com núcleo grande. Simultaneamente ao crescimento do ovócito observa-se aumento no número de nucléolos que são fortemente basófilos e se arranjam na periferia do núcleo (Figura 20A).

Ovócitos pré-vitelogênicos (OV2): apresentam redução da basofilia citoplasmática em relação ao ovócito jovem. O citoplasma possui aspecto granular e

pode-se observar o núcleo vitelínico. Nestes ovócitos já é possível visualizar a zona radiata que aparece como uma camada acelular e acidófila envolvendo o ovócito, e a camada de células foliculares pavimentosas externamente à zona radiata (Figura 20B).

Ovócitos com vesículas corticais (OV3): surgimento de estruturas claras e vasculares na periferia do citoplasma, as vesículas corticais, que aumentam em número e tamanho, ocupando quase todo o ooplasma à medida que o ovócito se desenvolve (Figura 20C).

Ovócitos vitelogênicos (OV4): o acúmulo de glóbulos de vitelo torna o citoplasma acidófilo. Devido a deposição desses glóbulos, as vesículas corticais deslocam-se para a periferia do ooplasma, formando um colar contínuo, denominado alvéolo cortical. O núcleo é menor em relação ao citoplasma do que os estágios anteriores, de aspecto irregular e com vários nucléolos. A zona radiata é espessa, exibindo estriações radiais e ondulações e a camada folicular consiste de células pavimentosas (Figura 20D).

Durante o estudo dos ovários das fêmeas de lambari no momento da desova e no acompanhamento pós-desova, compararam-se as análises macro e microscópicas dos ovários e foram encontrados diferentes estágios de maturação ovariana e ovocitária: maturação inicial, maturação final, pós-desova ou desovado e regressão, conforme a seguir:

Maturação inicial: ovários volumosos com vascularização e com ovócitos visíveis a olho nu, ocupando parte da cavidade celomática (Figura 21A). Verifica-se a presença de ovócitos em todas as fases de desenvolvimento (Figura 21B).

Maturação final: ovários de coloração amarronzada, volumosos e com vascularização intensa, ocupando grande parte da cavidade celomática (Figura 21C). Apesar de se verificar ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento, há maior presença de ovócitos vitelogênicos (Figura 21D).

Pós-desova ou desovado: ovários flácidos de coloração pardo amarelada (Figura 21E). Presença de folículos pós ovulatórios (Figura 21F).

Em regressão: ovários com aspecto gelatinoso, amarelados, translúcidos, bem vascularizados, com muitos ovócitos opacos (Figura 21G). Presença de ovócitos vitelogênicos em atresia com fendas na zona radiata e células foliculares hipertrofiadas (BAZZOLI e RIZZO, 1995) (Figura 21H).

Figura 19. Ovários de *Astyanax altiparanae* destacando duas lamelas ovulíferas, representadas pelos asteriscos, nas quais se encontram ovócitos de diferentes estádios de desenvolvimento (aumento 50x)

Figura 20. Cortes histológicos dos ovários de lambari, evidenciando diferentes fases de desenvolvimento ovocitário. A: ovócitos jovens (OV1) com citoplasma fortemente basófilo, núcleo esférico com nucléolos dispersos na periferia do núcleo; B: ovócitos pré-vitelogênicos com nítida visualização da zona radiata (ZR) coberta externamente por uma camada de células foliculares (CF); C: ovócitos com vesículas corticais (VC); D: ovócitos vitelogênicos com citoplasma acidófilo (A, B, C e D: aumento de 100X)

Figura 21. Desenvolvimentos ovarianos observados em *Atyanax altiparanae* no dia da desova e 60 dias após desova. maturação inicial. A: ovários em maturação inicial; B: corte histológico do ovário em maturação inicial, com ovócitos de todos os tipos de desenvolvimento; C: ovários em maturação final; D: corte histológico do ovário em maturação final repleto de ovócitos vitelogênicos; E: ovários desovados; F: corte histológico do ovário após a desova evidenciando os folículos pós-ovulatórios (asteriscos); G: ovários em regressão; H: corte histológico do ovário em regressão repleto de células jovens e presença de ovócitos vitelogênicos em atresia (setas). (B, D, F, H: aumento de 100X)

Tabela 8. Valores médios do número de ovócitos por grama de ovários, número total de ovócitos por grama de fêmea, número de total de ovócitos, calculados no momento da desova

Tratamentos	Número de ovócitos/g ovários	Número ovócitos/g fêmea	Número total de ovócitos
SO	7.272,40	1.182,90	11.702,26
TI	6.620,90	1.105,20	14.060,44
SA	6.637,60	1.308,30	16.453,43
F	0,95 ^{ns}	0,65 ^{ns}	2,48 ^{ns}
CV (%)	12,43	23,70	23,96

SO- dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo; SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão; ns = não significativo ($P>0,05$)

No dia em que foi realizada a reprodução dos lambaris foram sacrificadas matrizes para o cálculo do IGS referente ao momento da desova, caracterizado como dia zero. Neste momento as fêmeas apresentavam ovários volumosos, ocupando toda cavidade abdominal com vascularização intensa e cor pardo-esverdeada (Figura 22 A, C, E), conferindo dessa forma, altos valores do IGS (Figura 26). Verificou-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos no dia zero em relação ao número de ovócito por grama de ovários, ovócitos por grama de fêmea e quantidade total de ovócitos (Tabela 8).

Segundo Vazzoler (1996), o Índice Gonadossomático (IGS) é considerado um indicador eficiente do estado funcional dos ovários do peixe, uma vez que há uma relação direta do processo de maturação ovocitária com o aumento de volume das gônadas. As fêmeas de todos os grupos experimentais apresentaram altos valores dos IGS, indicando que se encontravam maduras sexualmente, o que foi confirmado pelas análises histológicas, onde confere-se ovários repletos de ovócitos vitelogênicos (Figura 22 B, D, F).

Garutti (1989) estudou a freqüência relativa dos estádios gonadais para *Astyanax bimaculatus* em cinco diferentes ambientes, sendo que o IGS calculado indicou valores máximos ao redor de 13% para fêmeas maduras. Nomura (1975), Barbieri et al (1992) e Agostinho et al. (1984) reportam valores máximos do IGS de 10,90%, ao redor de 11% e 7,4%, respectivamente para espécies do gênero *Astyanax* em ambiente natural.

Esses valores se mostraram inferiores aos encontrados no presente trabalho, uma vez que a média de IGS foi de 16,77% e o valor mais alto para esse estudo foi de 22,66% (Tratamento com óleo de salmão, SA). Esse fato pode estar relacionado com o oferecimento e disponibilidade de alimento artificial (ração), já que os trabalhos relatados acima foram realizados com espécimes retirados do ambiente natural. Outro fato, que pode ter influenciado o alto valor de IGS é a presença do macho, como foi observado por Navarro et al. (2006), o qual relatou que fêmeas e machos de *Astyanax bimaculatus* quando criados juntos apresentam IGS maiores (média de 17,02% para fêmeas e 13,02% para machos) quando comparados ao cultivo de mono sexo (média de 12,38% para fêmeas e 3,31% para machos).

Figura 22. Reprodutoras de lambari utilizadas para o cálculo do IGS no momento da desova e os respectivos cortes histológicos dos ovários. A e B: tratamento com óleo de soja; C e D: tratamento com óleo de tilápia; E e F: tratamento com óleo de soja (B, D e F: aumento de 50X)

Figura 23. Cortes histológicos dos ovários após a desova, caracterizados pela presença de folículos pós-ovulatórios (setas). A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão; setas representam os folículos pós-ovulatórios (A, B e C: aumento de 50X)

A Figura 23 apresenta os cortes histológicos dos ovários após a desova. Observa-se que houve eliminação dos ovócitos maduros em todos os tratamentos devido a presença de folículos pós-ovulatórios (setas nas Figuras 23 A, B e C) no estroma ovariano; ainda observa-se ovócitos maduros residuais e inúmeros ovócitos jovens e pré-vitelogênicos, como descrito por Leme dos Santos e Azoubel (1996).

A presença de ovócitos em diferentes fases de maturação nos ovários de lambari se deve ao tipo de desenvolvimento ovocitário da espécie que é assincrônico ou de desova parcelada (MARCON, 2008 e PEREIRA FILHO, 2000).

Em relação aos valores de IGS, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais no momento da desova. Apesar de se observar queda acentuada dos valores do IGS (Figura 26) aos vinte dias após a desova e sem diferenças estatísticas entre os tratamentos ($P > 0,05$), verifica-se que os ovários se apresentam menores, ocupando menor espaço na cavidade abdominal, e histologicamente constata-se o estágio de maturação inicial evidenciado pela presença

de ovócitos em todas as fases de desenvolvimento, inclusive com a presença de diversos ovócitos vitelogênicos (Figura 24).

Figura 24. Cortes histológicos dos ovários 20 dias após a desova evidenciando o estágio de maturação inicial. A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão (A, B e C: aumento de 50X)

Aos 40 dias após desova os tratamentos SO e TI apresentaram aumento nos valores do IGS (Figura 26), caracterizado por aumento das gônadas, maior ocupação da cavidade celomática e coloração e irrigação mais intensas. Os peixes alimentados com as dietas contendo óleo de tilápia (TI) apresentaram o maior valor do IGS em relação ao grupo de animais do SA, porém, não diferiu estatisticamente dos peixes alimentados com o tratamento SO. Histologicamente, os ovários ainda se apresentaram em estágio de maturação inicial.

Aos 60 dias houve aumento nos valores do índice gonadossomático das fêmeas que receberam a dieta com óleo de salmão e foi significativamente igual ao IGS das fêmeas SO ($p > 0,05$). Os ovários para esses tratamentos apresentavam-se com maior volume e vascularização e ocupando grande parte da cavidade celomática. Observa-se

que ambos os tratamentos (SO e SA) apresentavam cortes histológicos característicos de ovário maduro (Figura 25 A e B) com presença de grande quantidade de ovócitos vitelogênicos. Inclusões de óleo na dieta podem modificar o período de maturação das gônadas. Andrade, Honji e Romagosa (2010) avaliaram o processo de maturação das gônadas de *Pseudoplatystoma corruscans* alimentados com dois níveis protéicos (28 e 40%) suplementados com óleo de milho e constataram que os machos e fêmeas alimentados com 28% de PB com suplementação de óleo de milho apresentaram valores médios de IGS ligeiramente superior em relação aos demais tratamentos.

O valor médio de IGS dos peixes alimentados com óleo de tilápia foi significativamente inferior ($P < 0,05$) ao do IGS das fêmeas do tratamento com óleo de salmão, porém não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) em relação ao tratamento com óleo de soja. Verificou-se que aos 60 dias após a desova, os ovários das fêmeas TI apresentavam aspecto gelatinoso, coloração amarelada e ovócitos opacos vistos a olho nu, o que caracteriza o estágio de regressão. Nas análises histológicas verificou-se a presença de ovócitos jovens e de ovócitos vitelogênicos em atresia (asteriscos da Figura 25B). A atresia folicular é um processo degenerativo que pode ocorrer em ovários de peixes antes e após a desova (GANECO et al., 2001) e pode estar relacionada a diversos fatores (estresse, jejum, confinamento, temperatura etc). A presença de ovários em regressão nas fêmeas alimentadas com TI pode estar relacionado com a dieta experimental fornecida ou com o estresse proveniente do local de estocagem, uma vez que após a reprodução as fêmeas foram mantidas em mini tanques-rede circulares e verificavam-se enfrentamentos, o que pode ter gerado estresse e involução dos ovários.

Figura 25. Cortes histológicos dos ovários 60 dias após a desova. A: tratamento com óleo de soja; B: tratamento com óleo de tilápia; C: tratamento com óleo de salmão (A, B e C: aumento de 50X)

Figura 26. Índice Gonadossomático (%) dos tratamentos durante 60 dias. Letras diferentes no dia de amostragem diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

5.4. Experimento 2.: Desempenho em Crescimento

As médias de temperatura, oxigênio dissolvido, pH, amônia e nitrito durante o período experimental foram de $25,92 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$; $4,60 \pm 0,2 \text{ mg L}^{-1}$; $7,37 \pm 0,15$; 0 ppm e 0 mg L^{-1} , respectivamente, valores dentro dos considerados ideais para cultivo do *Astyanax altiparanae* (PORTO-FORESTI; CASTILHO-ALMEIDA; FORESTI, 2005).

Observa-se na Tabela 9 que não houve interação entre a dieta e o sexo para os parâmetros de desempenho produtivo. Entretanto, a variável sexo foi considerada significativa para os parâmetros estudados ($P < 0,01$), assim, verificou-se que as fêmeas apresentaram maior ganho em peso, melhores taxas de conversão alimentar e taxa de eficiência protéica quando comparados com os machos, porém, estes apresentaram maior sobrevivência no final do experimento.

Navarro et al. (2003) avaliaram a influência do sexo no desempenho do lambari prata (*Astyanax scabripinnis*) e verificaram que fêmeas com ou sem a presença do sexo oposto apresentaram maior crescimento, porém quando cultivadas sem a presença do macho tiveram ganho em peso superiores em relação aos peixes que foram criados juntos. Os lambaris machos criados isoladamente apresentaram menor ganho em peso em relação aos demais tratamentos. Ao contrário do presente trabalho, Navarro et al. (2003) verificaram menor sobrevivência para machos criados separadamente das fêmeas (71,11%), sendo que fêmeas cultivadas isoladamente apresentaram sobrevivência de 84,33%.

Turchini, Gunasekera e De Silva (2003) não observaram diferenças significativas no desempenho em crescimento quando testaram óleo de peixe, canola, oliva, gordura de suínos e óleo de víscera de aves como fonte lipídica na dieta da truta marrom. Para pintado, *Pseudoplatystoma coruscam*, também não foram verificadas diferenças significativas no desempenho zootécnico quando foram submetidos a dietas com 12% de lipídios independente da fonte testada (banha, óleo de milho, óleo de soja e linhaça) (MARTINO et al., 2002). Do mesmo modo, a variável dieta não diferiu estatisticamente dentro da variável sexo, ou seja, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para desempenho zootécnico entre os machos alimentados com as diferentes dietas, como também constatado no caso das fêmeas. Contrastando os dados apresentados, Francis et al. (2006) observaram maior ganho em peso final, melhores taxas de crescimento

específico e aumento de consumo diário de ração em *Maccullochella peelii peelii*, espécie de peixe australiana de água doce, alimentada com dietas contendo como fonte de lipídios, óleo de peixe (fígado de bacalhau) ou a mistura de óleo de peixe e óleo de linhaça em relação aos animais alimentados com óleo vegetal (canola ou linhaça) ou mesmo da mistura entre óleos de peixe e canola.

Nesse estudo, os óleos de resíduos de peixes não conferiram nenhum prejuízo no desempenho zootécnico na dieta de lambaris podendo ser utilizados em suas dietas. Da mesma forma, Boscolo et al. (2008) constataram que o óleo proveniente de resíduos de tilápia pode substituir totalmente o óleo de soja para larvas de tilápia do Nilo durante a fase de reversão sexual, sendo assim, uma alternativa promissora para a utilização dos resíduos provenientes do processamento da indústria frigorífica que está em constante ascensão.

Tabela 9. Valores médios de índices zootécnicos de lambaris após 60 dias de experimento

		Desempenho Zootécnico					
Tratamentos		PI	PF	GP	CAA	TEP	SOB
		(g)	(g)	(g)		(%)	(%)
Fêmeas	SO	3,96	5,84	1,79	2,10	1,20	54,17
	TI	4,03	7,12	2,15	2,30	1,57	37,50
	SA	4,00	7,19	3,18	1,75	2,03	29,17
Machos	SO	2,61	3,08	0,48	4,35	0,61	87,50
	TI	2,58	3,07	0,48	4,68	0,69	82,50
	SA	2,62	3,16	0,54	5,03	0,65	65,00
ANOVA (Valor F)	Dieta	0,10 ^{ns}	1,30 ^{ns}	3,45 ^{ns}	0,29 ^{ns}	1,33 ^{ns}	2,40 ^{ns}
	Sexo	676,42 ^{**}	84,30 ^{**}	48,05 ^{**}	31,59 ^{**}	15,88 ^{**}	18,45 ^{**}
	Dieta*Sexo	0,29 ^{ns}	1,17 ^{ns}	2,15 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,16 ^{ns}
	C.V. (%)	3,98	19,65	42,27	33,95	42,20	36,59

PI = peso inicial; PF = peso final; GP = ganho em peso; SOB = sobrevivência; CAA = conversão alimentar aparente; TEP = taxa de eficiência protéica

SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo, SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão. F = fêmeas e M = machos.

**P<0,01; ns = não significativo (P>0,05); letras diferentes nas linhas diferem entre os tratamentos dentro de cada sexo

Tabela 10. Valores médios de composição centesimal corporal dos lambaris fêmeas e machos.

Tratamentos		Composição Centesimal (%)			
		UM	PB	MM	EE
Fêmeas	SO	69,73	18,73 ^a	4,21	7,52 ^a
	TI	70,84	18,85 ^a	4,52	5,03 ^b
	SA	70,74	18,58 ^a	3,86	4,98 ^b
Machos	SO	72,50	17,29 ^a	4,61	6,36 ^a
	TI	74,92	15,50 ^c	4,05	5,18 ^b
	SA	73,37	16,66 ^b	4,29	4,68 ^b
ANOVA (Valor F)	Dieta	1,37 ^{ns}	19,54 ^{**}	2,65 ^{ns}	53,66 ^{**}
	Sexo	5,53 ^{ns}	419,89 ^{**}	1,42 ^{ns}	5,76 [*]
	Dieta*Sexo	0,88 ^{ns}	27,58 ^{**}	9,19 ^{ns}	4,50 [*]
	C.V. (%)	5,24	1,31	4,19	6,81

UM = Umidade; PB = Proteína Bruta; MM = Matéria Mineral; EE = Extrato Etéreo

SO - dieta elaborada com 5% óleo de soja; TI - dieta elaborada com 5% óleo de resíduos de tilápia do Nilo, SA – dieta com 5% de óleo de resíduos de salmão

**P<0,01; *P<0,05; ns = não significativo (P>0,05); letras diferentes nas linhas diferem entre os tratamentos dentro de cada sexo

Não houve interação ($P>0,05$) entre dieta e sexo nos teores de umidade e matéria mineral. Para os teores de proteína bruta e extrato etéreo foram constatados interação entre dieta e sexo (Tabela 10). Ao realizar o desdobramento, verifica-se que no caso das fêmeas não houve diferenças significativas ($P>0,05$) em relação aos teores de proteína bruta no que se refere às diferentes dietas arraçadas, porém, verifica-se que as fêmeas apresentaram maiores teores de proteína bruta no músculo quando comparadas com os machos ($P<0,01$). Dentro do grupo dos machos, observa-se que os animais alimentados com a dieta contendo óleo de soja, apresentaram o maior valor médio ($P<0,01$) de proteína bruta (17,29), seguido pelos animais alimentados com dieta com óleo de salmão e por último aqueles arraçados com a dieta com óleo de tilápia. Em relação ao extrato etéreo, foram maiores os valores médios para fêmeas em comparação aos machos ($P<0,05$), todavia, observaram-se dentro de cada grupo que os animais que receberam a dieta contendo óleo de soja, independente do sexo, apresentaram maiores conteúdos de lipídios no músculo.

Ribeiro et al. (2008) avaliaram o efeito da inclusão de 4% de diferentes fontes de óleo (oliva, milho, linhaça e peixe) na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias do Nilo. Os autores verificaram que os peixes alimentados com dietas contendo óleo de oliva, milho e soja apresentaram maior deposição lipídica muscular, porém, foram acompanhados de menores teores protéicos em comparação aos animais que receberam dietas com óleo de linhaça e de peixe. Nesse trabalho, os machos e fêmeas alimentados com dieta contendo óleo de soja apresentaram maiores teores de extrato etéreo, porém ao contrário do estudo citado acima, esses animais também apresentaram os melhores teores de proteína bruta (machos) não diferiu estatisticamente ($P>0,05$) dos tratamentos TI e SA (fêmeas).

Os perfis de ácidos graxos presente nos músculos de machos e fêmeas no experimento de desempenho estão apresentados na Tabelas 11. Observa-se situação semelhante quanto a composição muscular de ácidos graxos de machos e fêmeas após 60 dias de experimento. A maior concentração ($p<0,05$) de ácidos graxos saturados foi encontrada em machos e fêmeas alimentadas com dieta suplementada com óleo de salmão (SA), sem diferença significativa entre os outros tratamentos SO e TI, fato semelhante ao ocorrido com a deposição de ácidos graxos monoinsaturados. Para os ácidos graxos polinsaturados, maiores valores ($p<0,05$) foram observados nos músculos de machos alimentados com dietas contendo óleo de soja (SO) em relação ao tratamento TI, porém, sem diferenças significativas em relação ao músculo dos animais que receberam dieta com óleo de salmão. Já em relação as fêmeas, observa-se maiores valores ($p<0,05$) no tratamento SO, seguido de SA e TI, provavelmente devido ao maior teor de ácido graxo linoléico (C18:2 n-6) presente no óleo de soja.

Tanto no músculo dos machos quanto das fêmeas de lambari dos tratamentos verificou-se que os ácidos graxos que estiveram presentes em quantidade consideráveis foram o oléico (C18:1n-9), seguido pelo palmítico (C16:0), linolênico (C18:2n-6) e esteárico (C18:0). Porém, machos e fêmeas alimentados com óleo de salmão apresentaram o maior teor de ácidos graxos da série n-3 e os alimentados com óleo de soja tiveram o maior conteúdo de ácidos graxos da série n-6. Esses dados condizem com o estudo de Martino et al. (2002), no qual foi constatado que pintados alimentados com óleo de soja e milho apresentaram grandes quantidades de ácidos graxos da série n-6 e os alimentados com óleo de linhaça continham maior quantidade de ácidos graxos da série n-3.

Akpinar et al. (2009) compararam o perfil de ácidos graxos no fígado e músculos de machos e fêmeas de *Salmo trutta macrostigma* e encontraram nos dois tecidos e em ambos os sexos o ácido graxo palmítico (C16:0) como o mais abundante, seguido do esteárico (18:0), ácido oléico (C18:1n-9), EPA (C20:5n-3) e DHA (C22:6n-3) e relação n-3/n-6 de 2,89 e 1,97 para machos e fêmeas, respectivamente. Apesar de ser um peixe de água doce, essa espécie apresentou elevados teores de EPA e DHA, o que pode estar relacionado a baixas temperaturas necessárias para a sobrevivência dessa espécie e por terem sido capturados no habitat natural, ou seja, alimentação natural. Além disso, os autores associam esses valores de EPA e DHA ao fato dos peixes de água doce possuir enzimas que capacitam a elongação e dessaturação de ácidos graxos precursores. O ácido graxo oléico foi encontrado em maior concentração tanto no músculo de lambaris machos quanto das fêmeas, seguido pelo palmítico, linolênico e esteárico, o que está relacionado com a inclusão de grãos nas dietas teste.

Ao avaliar a inclusão de diferentes fontes de lipídios em dietas para tilápia do Nilo, Ribeiro et al. (2008) verificaram que os peixes alimentados com óleo de linhaça apresentaram teores mais elevados de ácido α -linolênico (1,07%); os alimentados com óleo de milho e soja apresentaram teores mais elevados de ácido araquidônico (8,15 e 9,28%, respectivamente) e os que receberam dieta formulada com óleo de peixe apresentaram maiores teores de EPA (1,75%). No presente trabalho, os peixes alimentados com dieta contendo óleo de salmão apresentaram maiores concentrações de EPA e DHA no músculo em relação aos peixes dos demais grupos ($P < 0,05$). Contudo, os grupos de animais tanto machos quanto as fêmeas, apresentaram baixos valores desses ácidos graxos de cadeia longa, máximo de 0,08 para EPA e 0,23 para DHA, assim como foi observado no perfil de ácidos graxos das reprodutoras de lambari, o que pode reforçar a hipótese de que os ácidos graxos altamente insaturados são transferidos para outro (s) tecido (s), não ao músculo. Ao contrário desses resultados, López et al. (2009) com o objetivo de determinar o nível ótimo de lipídios para *sea bass* (*Atractoscion nobilis*) verificaram que o músculo e o fígado desses animais refletiram o perfil de ácidos graxos presente nas dietas independente do nível de inclusão de lipídios.

Os outros cálculos com relação aos ácidos graxos foram semelhantes entre machos e fêmeas, apenas observando-se maiores teores de ácidos graxos depositados no músculo das fêmeas (saturados, monoinsaturados e polinsaturados).

Provavelmente o acúmulo maior destes ácidos graxos esteja relacionado à maior necessidade das fêmeas em reter energia para a produção dos ovos com boa reserva nutritiva para as futuras larvas.

Tabela 11. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do perfil de ácidos graxos do músculo dos machos e fêmeas de lambari

Ácidos Graxos	Machos			Fêmeas			Significância		
	SO	TI	SA	SO	TI	SA	D ¹	S ²	D*S ³
C14:0	0,030 ^b	0,045 ^{ab}	0,060 ^a	0,040 ^c	0,070 ^b	0,105 ^a	***	***	**
C15:0	0,010	0,010	0,010	0,010 ^b	0,010 ^b	0,020 ^a	***	***	***
C16:0	0,860 ^b	0,890 ^b	1,035 ^a	1,215 ^b	1,265 ^b	1,420 ^a	***	***	ns
C16:1	0,080 ^c	0,115 ^b	0,150 ^a	0,110 ^c	0,155 ^b	0,210 ^a	***	***	**
C17:0	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	ns	ns	ns
C 17:1	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	ns	ns	ns
C18:0	0,380 ^a	0,345 ^b	0,395 ^a	0,395 ^b	0,395 ^b	0,435 ^a	***	***	ns
C18:1n-9	1,755 ^b	1,590 ^c	1,895 ^a	1,700 ^b	1,750 ^b	2,020 ^a	***	**	**
C18:2n-6	1,095 ^a	0,650 ^c	0,870 ^b	1,470 ^a	0,885 ^c	0,990 ^b	***	***	***
C18:3n-6	0,020	0,020	0,020	0,030 ^a	0,030 ^a	0,020 ^b	***	***	***
C18:3n-3	0,050 ^a	0,030 ^b	0,045 ^a	0,060 ^a	0,030 ^b	0,060 ^a	***	**	*
C 20:0	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	ns	ns	ns
C20:1n-9	0,075 ^{ab}	0,065 ^b	0,090 ^a	0,045 ^b	0,060 ^{ab}	0,070 ^a	***	***	*
C20:2	0,030	0,025	0,030	0,030	0,035	0,030	ns	ns	ns
C20:4n-6	0,050 ^a	0,050 ^a	0,040 ^b	0,060 ^a	0,055 ^a	0,030 ^b	***	ns	***
C20:3n-3	0,085 ^a	0,060 ^b	0,050 ^b	0,100 ^a	0,085 ^a	0,040 ^b	***	***	***
C20:5n-3	0,010 ^b	0,010 ^b	0,050 ^a	0,010 ^b	0,010 ^b	0,080 ^a	***	***	***
C22:6n-3	0,135 ^b	0,080 ^c	0,225 ^a	0,100 ^b	0,115 ^b	0,215 ^a	***	ns	***
Total	4,865 ^a	4,170 ^b	5,200 ^a	5,630 ^{ab}	5,230 ^b	5,980 ^a	***	***	ns
ΣSAT	1,310 ^b	1,320 ^b	1,530 ^a	1,690 ^b	1,770 ^b	2,010 ^a	***	***	***
ΣMONO	1,920 ^b	1,780 ^b	2,145 ^a	1,865 ^b	1,975 ^b	2,310 ^a	***	***	***
ΣPOLI	1,475 ^a	0,925 ^c	1,330 ^b	1,860 ^a	1,245 ^c	1,465 ^b	***	***	***
Σn-3	0,280 ^b	0,180 ^c	0,370 ^a	0,270 ^b	0,240 ^b	0,395 ^a	***	***	***
Σn-6	1,165 ^a	0,720 ^c	0,930 ^b	1,560 ^a	0,970 ^b	1,040 ^b	***	***	***
n-3/n-6	0,240 ^b	0,250 ^b	0,398 ^a	0,173 ^c	0,250 ^b	0,380 ^a	***	***	***

¹Dieta; ²Sexo, ³Dieta*Sexo

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, em cada sexo, diferem entre si pelo teste de Tukey

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; ns = não significativo (P>0,05)

5.5. Experimento 3: Comparação entre lambaris selvagens e de cativeiro

As fêmeas de lambari coletadas em cativeiro apresentaram peso total médio inferior ($p < 0,05$) aos peixes selvagens. Porém, foram observados valores significativamente superiores ($P < 0,05$) em relação ao peso dos ovários e fígados, índices gonadosomático e hepatossomático para as fêmeas oriundas do cativeiro (Tabela 12), o que deve estar relacionado com o arroçoamento freqüente (duas vezes ao dia) com dieta comercial para os peixes cultivados.

Tabela 12. Valores médios de peso total, peso dos ovários, peso do fígado, IGS e IHS de lambaris selvagens e de cativeiro

Parâmetros	Tratamentos		Estatística	
	Cativeiro	Selvagem	F	CV (%)
Peso total médio (g)	20,91 ^b	24,08 ^a	8,12**	19,15
Peso médio ovários (g)	2,83 ^a	1,52 ^b	42,92**	35,63
Peso médio fígado (g)	0,15 ^a	0,11 ^b	19,45**	30,02
IGS (%)	13,43 ^a	6,08 ^b	148,14**	23,99
IHS (%)	0,74 ^a	0,45 ^b	35,20**	30,72

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05)

Segundo Ackman (1989) os peixes podem ser classificados de acordo com o conteúdo de lipídios presentes no músculo e assim divididos em quatro categorias: baixíssimo (<2% de gordura), baixo (2-4% de gordura), médio (2-8% de gordura) e alto (>8% de gordura). Os lambaris de cativeiro e selvagens apresentaram 3,7 e 3,4% de gordura no músculo na matéria úmida, respectivamente, o que os classificam como peixes com baixa gordura. Os resultados do experimento de desempenho de lambaris desse trabalho demonstraram valores superiores (4,68 a 7,52%) de extrato etéreo no músculo de machos e fêmeas de lambari quando comparados aos teores apresentados no experimento de comparação entre cativeiro e selvagem. Da mesma forma, Cotan et al. (2006) encontraram valores 8,74 a 11,33% de gordura na composição final de lambaris alimentados com dietas contendo níveis de 32 ou 38% proteína bruta e níveis crescentes de energia bruta. Os autores relacionaram o alto teor de gordura com o excesso de lipídios na dieta que poderia prejudicar a capacidade de digestão do peixe e provocar maiores taxas de deposição de gordura.

No presente estudo, os animais foram alimentados com uma dieta comercial (Laguna® onívoros para alevinos, 2,6mm) e apesar do fabricante assegurar 7% de lipídios, foi constatado, em análises laboratoriais, o valor de 3,68% (Tabela 13) o que provavelmente está relacionado com o teor de lipídios no músculo dos animais provenientes de cativeiro (Tabela 14). Outra possibilidade seria a fase de reprodução em que se encontravam os animais, evidenciada pela época das coletas (dezembro) além da conformação corporal das fêmeas utilizadas no experimento (ventre abaulado e papila genital avermelhada e saliente). Nesta fase, os ovários necessitam de grande quantidade de nutrientes para formarem a reserva vitelínica do embrião e assim, pode ter ocorrido um recrutamento dos lipídios presentes no músculo e/ou fígado para os ovários. Foram constatados maiores valores de lipídios totais nos tecidos ovarianos em relação ao músculo e fígado. Ainda, verificou-se que os animais selvagens apresentaram valores superiores de lipídios nos ovários (14,45%) (Tabela 15) quando comparados com os animais oriundos do cativeiro (13,18%), o que pode indicar que a dieta comercial fornecida não continha quantidades de gordura suficiente para o requerimento da espécie na fase de reprodução. Bayir et al. (2010) verificaram a variação de 1,50 a 4,67% de conteúdo lipídico em três espécies de salmonídeos (*Salmo trutta caspius*, *Salmo trutta labrax*, *Salmo trutta macrostigma*) durante o ano (verão de 2006 ao outono de 2007) e relataram o menor teor de gordura durante o outono, caracterizado como início da época de reprodução das espécies e utilização das reservas de gordura para maturação dos ovários.

Os valores médios de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados presentes no lipídio total não diferiram entre selvagens e cultivados em relação ao músculo e fígado (Tabelas 14 e 16), entretanto, foram verificados maiores níveis ($P < 0,05$) de saturados e monoinsaturados nos ovários dos peixes selvagens (Tabela 15). Nos tecidos, foram observadas maiores predominâncias dos ácidos graxos palmítico (C16:0) dentro do grupo de ácidos graxos saturados e oléico (C18:1n-9) dentro do grupo de monoinsaturados.

Tabela 13. Valores médios do perfil em ácidos graxos ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) da ração fornecida para os lambaris criados em cativeiro

Ácidos Graxos	Lipídio total	Fração apolar	Fração polar
C14:0	0,020	0,001	0,015
C16:0	0,507	0,028	0,452
C16:1n-7	0,030	0,001	0,032
C17:0	0,007	0,000	0,005
C18:0	0,178	0,009	0,163
C18:1n-9	0,925	0,024	0,878
C18:1n-7	0,040	0,002	0,035
C18:2n-6	0,972	0,038	0,921
C18:3n-6	0,002	0,000	0,000
C18:3n-3	0,068	0,002	0,067
C20:0	0,014	0,000	0,011
C18:4n-3	0,000	0,000	0,000
C20:1n-9	0,012	0,000	0,009
C20:2n-6	0,000	0,000	0,000
C20:3n-6	0,000	0,000	0,000
C20:4n-6	0,005	0,003	0,005
C20:5n-3	0,006	0,000	0,004
C22:4n-6	0,000	0,000	0,000
C22:5n-6	0,000	0,000	0,000
C22:5n-3	0,002	0,000	0,000
C22:6n-3	0,004	0,000	0,003
ΣSAT	0,725	0,039	0,647
ΣMONO	1,008	0,027	0,954
ΣPOLI	1,061	0,045	1,001
$\Sigma\text{n-3}$	0,081	0,003	0,075
$\Sigma\text{n-6}$	0,980	0,041	0,926
n-3/n-6	0,083	0,079	0,081
Lipídios (%)	3,672	91,570	8,430

Tabela 14. Valores médios do perfil em ácidos graxos ($\text{g} \cdot 100^{-1} \text{g}$) presentes no lipídio total, frações neutra e polar do músculo de lambaris de cativo e selvagem

Ácido Graxo	Lipídio total		Fração apolar		Fração polar	
	Cativo	Selvagem	Cativo	Selvagem	Cativo	Selvagem
C14:0	0,036	0,028	0,032	0,026	0,001	0,000
C16:0	1,070	0,871	0,673	0,541	0,355 ^a	0,301 ^b
C16:1n-7	0,099	0,068	0,087	0,063	0,005	0,005
C17:0	0,011	0,013	0,010	0,010	0,003	0,003
C18:0	0,423	0,407	0,228	0,212	0,181	0,172
C18:1n-9	1,547	1,216	1,306	1,038	0,176	0,161
C18:1n-7	0,100	0,076	0,067	0,049	0,026	0,025
C18:2n-6	0,622	0,452	0,515	0,334	0,084 ^b	0,109 ^a
C18:3n-6	0,008	0,007	0,007	0,005	0,000	0,001
C18:3n-3	0,023 ^b	0,083 ^a	0,022 ^b	0,071 ^a	0,004 ^b	0,013 ^a
C20:0	0,006	0,009	0,008	0,009	0,000	0,001
C20:1n-9	0,030	0,025	0,027	0,022	0,002	0,004
C20:2n-6	0,021	0,014	0,011	0,007	0,009	0,008
C20:3n-6	0,044	0,050	0,020	0,015	0,026	0,031
C20:4n-6	0,144 ^b	0,192 ^a	0,026	0,026	0,110 ^b	0,138 ^a
C20:5n-3	0,045	0,037	0,016	0,011	0,027	0,025
C22:4n-6	0,014 ^b	0,021 ^a	0,004	0,004	0,012	0,016
C22:5n-6	0,044 ^b	0,062 ^a	0,006	0,004	0,038 ^b	0,052 ^a
C22:5n-3	0,018 ^b	0,028 ^a	0,006	0,002	0,015 ^b	0,023 ^a
C22:6n-3	0,411 ^a	0,296 ^b	0,047 ^a	0,023 ^b	0,307 ^a	0,230 ^b
ΣSAT	1,546	1,328	0,951	0,799	0,540	0,476
ΣMONO	1,776	1,386	1,488	1,172	0,210	0,194
ΣPOLI	1,395	1,244	0,679	0,502	0,632	0,645
Σn-3	0,497 ^a	0,445 ^b	0,091	0,106	0,353 ^a	0,291 ^b
Σn-6	0,898	0,798	0,588	0,395	0,279 ^b	0,354 ^a
n-3/n-6	0,569	0,579	0,156 ^b	0,288 ^a	1,285 ^a	0,833 ^b
Lipídios(%)	3,694	3,387	58,373	51,606	40,387	46,327

Letras diferentes nas linhas dentro de cada fração (lipídio total, apolar e polar) diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$)

Em relação aos ácidos graxos polinsaturados verificam-se três diferentes situações entre cada tecido, ou seja, no músculo não foram observadas diferenças

significativas ($P>0,05$) entre os animais selvagens e de cativeiro, no fígado os polinsaturados apresentaram-se em maior ($P<0,05$) quantidade no grupo de animais de cativeiro, ao contrário do que ocorreu nos ovários, onde aqueles oriundos dos animais selvagens apresentaram maiores valores em comparação aos de cativeiro. Um fato importante deve ser destacado em relação ao ácido graxo linolênico (C18:3n-3), considerado como ácido graxo essencial para peixes de água doce, que foi encontrado em maior quantidade no músculo, fígado e ovários dos lambaris selvagens (0,083, 0,076, 0,231g.100g⁻¹ respectivamente) quando comparados com os tecidos dos lambaris de cativeiro (0,023, 0,0270, 0,022g.100g⁻¹), atingindo em variação superior, de 2,81 a 10,50 vezes (Tabelas 14, 15 e 16). Esse fato também foi evidenciado por Lemos (2008) em estudo de comparação do perfil lipídico entre jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados e selvagens, que verificou quantidades quase três vezes superiores de ácido linolênico nos tecidos hepáticos e gonadal dos animais selvagens. Essas ocorrências podem estar relacionadas com a deficiência dos ácidos graxos linolênico nas dietas para peixes onívoros. Por outro lado, a ração apresentou o ácido graxo essencial linoléico (C18:2n-6) como o mais abundante em seu perfil, o que satisfaz a quantidade requerida pela espécie, demonstrada pelos valores similares e sem diferenças estatísticas ($P>0,05$) entre os grupos selvagens e cativeiro nos tecidos.

Verifica-se que mesmo a dieta apresentando baixos teores de ácidos graxos da série n-3 (0,081g.100g⁻¹), o lambari de cativeiro conseguiu manter no fígado e músculo quantidades superiores (0,836 e 0,497g.100g⁻¹) ($P<0,05$) aos tecidos dos selvagens (0,445 e 0,332g.100g⁻¹) (Tabelas 14 e 16). Por outro lado, o oposto ocorreu em relação aos ovários, sendo a maior quantidade (1,388g.100g⁻¹) presente nos animais selvagens quando comparados com os ovários dos animais de cativeiro (1,132g.100g⁻¹). O mesmo ocorreu na série n-6, ou seja, apesar do músculo e fígado apresentarem maiores quantidades de n-6, os ovários dos animais de cultivo apresentaram quantidades significativas menores (2,114g.100g⁻¹) ($P<0,05$) que os selvagens (2,706g.100g⁻¹) (Tabela 15). Esses resultados ressaltam a necessidade desses ácidos graxos de longa cadeia e alta insaturação na dieta de peixes em processo reprodutivo.

Tabela 15. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do perfil de ácidos graxos presentes no lipídio total, frações neutra e polar dos ovários de lambaris de cativeiro e selvagem

Ácido Graxo	Lipídio total		Fração apolar		Fração polar	
	Cativeiro	Selvagem	Cativeiro	Selvagem	Cativeiro	Selvagem
C14:0	0,121 ^b	0,181 ^a	0,112 ^b	0,158 ^a	0,018	0,020
C16:0	4,685	5,157	3,007 ^b	3,452 ^a	1,711	1,618
C16:1n-7	0,322	0,385	0,264 ^b	0,320 ^a	0,059	0,059
C17:0	0,051 ^b	0,067 ^a	0,039	0,045	0,012	0,020
C18:0	1,344 ^b	1,695 ^a	0,390 ^b	0,578 ^a	0,944 ^b	1,093 ^a
C18:1n-9	4,795 ^b	5,555 ^a	2,893 ^b	3,756 ^a	1,918	1,738
C18:1n-7	0,365	0,387	0,235	0,270	0,134 ^a	0,105 ^b
C18:2n-6	1,058	1,269	0,630	0,836	0,402	0,386
C18:3n-6	0,005 ^b	0,038 ^a	0,011 ^b	0,027 ^a	0,002	0,015
C18:3n-3	0,022 ^b	0,231 ^a	0,019 ^b	0,166 ^a	0,006 ^b	0,069 ^a
C20:0	0,000	0,006	0,005	0,005	0,000	0,000
C20:1n-9	0,054	0,055	0,028	0,031	0,023	0,020
C20:2n-6	0,087 ^a	0,047 ^b	0,017	0,012	0,063 ^a	0,038 ^b
C20:3n-6	0,255	0,259	0,044	0,045	0,201	0,205
C20:4n-6	0,533 ^b	0,848 ^a	0,034	0,042	0,491 ^b	0,762 ^a
C20:5n-3	0,139 ^b	0,246 ^a	0,007	0,018	0,116 ^b	0,227 ^a
C22:4n-6	0,074 ^b	0,122 ^a	0,008	0,009	0,083 ^b	0,123 ^a
C22:5n-6	0,102	0,123	0,004	0,000	0,083 ^b	0,118 ^a
C22:5n-3	0,051 ^b	0,156 ^a	0,002	0,000	0,048 ^b	0,143 ^a
C22:6n-3	0,920 ^a	0,755 ^b	0,034 ^a	0,009 ^b	0,830 ^a	0,709 ^b
ΣSAT	6,202 ^b	7,106 ^a	3,553 ^b	4,239 ^a	2,685	2,752
ΣMONO	5,537 ^b	6,382 ^a	3,421 ^b	4,377 ^a	2,133	1,923
ΣPOLI	3,246 ^b	4,095 ^a	0,813 ^b	1,165 ^a	2,325 ^b	2,798 ^a
Σn-3	1,132 ^b	1,388 ^a	0,066 ^b	0,193 ^a	0,999 ^b	1,150 ^a
Σn-6	2,114 ^b	2,706 ^a	0,747	0,972	1,325 ^b	1,648 ^a
n-3/n-6	0,536	0,524	0,088 ^b	0,210 ^a	0,755	0,705
Lipídios(%)	13,181 ^b	14,447 ^a	41,915 ^b	48,031 ^a	58,967 ^a	53,461 ^b

Letras diferentes nas linhas dentro de cada fração (lipídio total, apolar e polar) diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$)

Os ácidos graxos essenciais araquidônico (C20:4n-6), eicosapentaenóico (C20:5n-3) e docosaexaenóico (C22:6n-3) estiveram presentes em pequenas quantidades no lipídio total da dieta comercial (0,005, 0,006 e 0,004g.100g⁻¹, respectivamente) e apresentaram valores bem mais elevados no músculo (0,144, 0,045, 0,411g.100g⁻¹, respectivamente), fígado (0,653, 0,080, 0,704g.100g⁻¹, respectivamente) e ovários (0,533, 0,139, 0,920g.100g⁻¹, respectivamente), evidenciando, que os lambaris possuem a capacidade de realizar a elongação e dessaturação de ácidos graxos de menor cadeia carbônica. A capacidade de elongação e dessaturação também foi evidenciada em espécies brasileiras de água doce como no pintado (MARTINO et al., 2002; TANAMATI et al, 2009), jundiá (LEMOS, 2008; VARGAS et al., 2008), pacu (TANAMATI et al, 2009) e matrinxã (ALMEIDA; FRANCO, 2007). Além disso, os ácidos graxos encontrados na dieta comercial também estavam presentes nos tecidos dos animais de cativeiro. No entanto, foram observadas as ausências dos ácidos graxos C20:2n-6, C20:3n-6, C22:4n-6, C22:5n-6 na dieta comercial e a presença dos mesmos nos tecidos dos peixes que receberam essa dieta, sugerindo que esses ácidos graxos possam ser produtos intermediários do processo de elongação e dessaturação na rota de produção do ácido araquidônico (TURCHINI, FRANCIS; DE SILVA, 2006).

Tanamati et al. (2009) avaliaram os perfis de ácidos graxos do músculos de pintados e pacus selvagens e de cativeiro e evidenciaram maiores teores de DHA e EPA nos peixes cultivados. No entanto, Lemos (2008) não encontrou diferenças significativas desses ácidos graxos no músculo dorsal de jundiás selvagens e de cativeiro. No presente estudo, o DHA foi significativamente maior ($P < 0,05$) no músculo e fígado dos lambaris cultivados (0,441 e 0,704g.100g⁻¹) do que nos selvagens (0,296 e 0,146g.100g⁻¹) e sem diferenças significativas ($P > 0,05$) em relação ao EPA. Entretanto, nos ovários, apesar de haver maior concentração de DHA nos animais de cativeiro (0,920g.100g⁻¹) contra os selvagens (0,755g.100g⁻¹), o EPA estava presente em níveis significativamente maiores nos selvagens (0,246g.100g⁻¹) do que os oriundos do cativeiro (0,139g.100g⁻¹)

Tabela 16. Valores médios ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do perfil em ácidos graxos presentes no lipídio total, frações neutra e polar do fígado de lambaris de cativeiro e selvagem

Ácido Graxo	Lipídio total		Fração apolar		Fração polar	
	Cativeiro	Selvagem	Cativeiro	Selvagem	Cativeiro	Selvagem
C14:0	0,075	0,110	0,023 ^b	0,075 ^a	0,010	0,013
C16:0	2,102	2,716	0,452 ^b	1,610 ^a	0,579	0,621
C16:1n-7	0,147	0,215	0,042 ^b	0,160 ^a	0,027 ^a	0,020 ^b
C17:0	0,038	0,051	0,009 ^b	0,022 ^a	0,015	0,013
C18:0	1,580	1,630	0,168 ^b	0,622 ^a	0,609	0,632
C18:1n-9	2,800	4,101	0,572 ^b	2,742 ^a	0,809	0,784
C18:1n-7	0,197	0,219	0,043 ^b	0,124 ^a	0,051 ^b	0,056 ^a
C18:2n-6	0,698	0,698	0,151 ^b	0,476 ^a	0,191 ^a	0,117 ^b
C18:3n-6	0,009	0,016	0,002	0,011	0,001	0,003
C18:3n-3	0,027 ^b	0,076 ^a	0,006 ^b	0,050 ^a	0,005 ^b	0,016 ^a
C20:0	0,008 ^b	0,046 ^a	0,004 ^a	0,028 ^b	0,004	0,009
C20:1n-9	0,050 ^b	0,104 ^a	0,013 ^b	0,071 ^a	0,014	0,022
C20:2n-6	0,072 ^a	0,035 ^b	0,008	0,006	0,029 ^a	0,010 ^b
C20:3n-6	0,240 ^a	0,084 ^b	0,028	0,022	0,099 ^a	0,042 ^b
C20:4n-6	0,653 ^a	0,329 ^b	0,055	0,035	0,269	0,227
C20:5n-3	0,080	0,068	0,009	0,005	0,031	0,036
C22:4n-6	0,060	0,021	0,004	0,004	0,025	0,028
C22:5n-6	0,117 ^a	0,044 ^b	0,010	0,003	0,041 ^a	0,029 ^b
C22:5n-3	0,020	0,030	0,001	0,001	0,006 ^b	0,022 ^a
C22:6n-3	0,704 ^a	0,146 ^b	0,057 ^a	0,010 ^b	0,227 ^a	0,107 ^b
ΣSAT	3,802	4,553	0,655 ^b	2,358 ^a	1,217	1,288
ΣMONO	3,193	4,638	0,669 ^b	3,098 ^a	0,901	0,883
ΣPOLI	2,684 ^a	1,559 ^b	0,331 ^b	0,624 ^a	0,924 ^a	0,638 ^b
Σn-3	0,836 ^a	0,332 ^b	0,073	0,066	0,270	0,182
Σn-6	1,849 ^a	1,227 ^b	0,258 ^b	0,558 ^a	0,654 ^a	0,456 ^b
n-3/n-6	0,451 ^a	0,279 ^b	0,284 ^a	0,129 ^b	0,419	0,402
Lipídios(%)	2,088 ^b	3,931 ^a	33,180 ^b	48,712 ^a	66,053 ^a	42,162 ^b

Letras diferentes nas linhas dentro de cada fração (lipídio total, apolar e polar) diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$)

Em peixes marinhos, Almansa et al. (2001) descreveram que os lipídios neutros são estocados no músculo e fígado, porém, são mobilizados no início da vitelogênese para contribuir nas reservas dos ovos e/ou como substrato energético para síntese de lipoproteínas específicas que transportam lipídios e proteínas do fígado para os ovários. Os lambaris coletados no presente trabalho estavam em período de reprodução e os lipídios apolares estiveram presentes em maior quantidade nos ovários em relação aos demais tecidos. Porém, nos ovários e fígados dos animais selvagens houve maior teor dessa fração lipídica (48,712 e 48,031g.100g⁻¹, respectivamente) em relação aos animais de cativeiro (33,180 e 41,915g.100g⁻¹, respectivamente) e não houve diferenças significativas ($P>0,05$) em relação ao músculo. Esse fato indica a importância dessa classe de lipídios para o desenvolvimento das gônadas de lambari. Da mesma forma, Cejas et al. (2004) verificaram altas concentrações de lipídio neutro nos ovários de peixes selvagens (72,46g.100g⁻¹) e ovários e ovos (71,48 e 65,85g.100g⁻¹, respectivamente) de peixes de cativeiro da espécie *Diplodus sargus*.

Além de apresentar um papel importante na geração de energia para manutenção, os ácidos graxos também desempenham uma função fundamental no fornecimento de energia para a reprodução e, particularmente, para a produção de ovos (HENDERSON; ALMATAR, 1989). A oxidação seletiva dos ácidos graxos 20:1n-9 e 22:1n-11 nos depósitos de triacilglicerol certamente ocorre durante a formação dos ovos, como foi apresentado por Henderson et al. (1984) com a espécie *capelin* (*Mallotus villosus*), uma vez que esses ácidos graxos eram abundantes nos depósitos de triacilglicerol da mãe, mas estavam presentes em pequenas quantidades nos ovos.

Segundo Henderson e Tocher (1987) o ácido graxo oléico (C18:1n-9) é o mais abundante, seguido do ácido graxo palmítico na fração de triacilglicerol presente no lipídio neutro, e segundo Sargent et al. (2002) podem ser encontrados, os ácidos graxos 20:1n-9 (ácido gadoleico) e 22:1n-11 (ácido cetoleico) em quantidades abundantes nos triglicerídeos dos peixes. Os resultados do presente trabalho estão de acordo com a afirmação de Henderson e Tocher (1987) para os tecidos, com exceção dos ovários proveniente do lambari de cultivo que apresentou maiores teores do ácido palmítico (3,007g.100g⁻¹) que o ácido oléico (2,893g.100g⁻¹) na fração apolar. O ácido gadoleico representou uma pequena porção do total de ácidos graxos nas frações e tecidos e ácido cetoleico não foi detectado em nenhuma

amostra. Além disso, na fração apolar os ácidos graxos polinsaturados da série n-3 estiveram presentes em baixa quantidade em relação às demais frações, sendo que os ovários dos selvagens apresentaram maior ($P < 0,05$) concentração desses ácidos graxos ($0,193\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) do que os ovários dos cultivados ($0,066\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e não foram observadas diferenças significativas entre os demais tratamentos. Por apresentar baixas concentrações em ácidos graxos da série n-3, a fração apolar possui a menor relação n-3/n-6 que as demais classes lipídicas, sendo que essa relação foi inferior para ovários e músculo dos peixes cultivados (0,088 e 0,156) quando confrontados com os tecidos dos animais selvagens (0,210 e 0,288).

Os fosfolipídios raramente contêm significativa quantidade de ácidos graxos saturados, com exceção dos C16:0, C18:0 e C20:0. Esta restrição está relacionada com a geometria relativamente invariável das bicamadas de fosfolipídios que constituem membranas celulares dos animais, especialmente a membrana plasmática e do retículo endoplasmático (SARGENT et al., 2002). Dentro da fração polar, os ácidos graxos encontrados em maior quantidade em ordem decrescente foram oléico, palmítico, esteárico (C18:0) nos ovários e fígado, já no músculo foram encontrados na seguinte ordem: palmítico, DHA e esteárico. A fração polar dos músculos dos animais selvagens apresentou maiores proporções de linoléico (C18:2n-6), linolênico (C18:3n-3), araquidônico (C20:4n-6), C22:5n-6 e C22:5n-3, sendo que a fração polar dos peixes cultivados apresentou níveis superiores que os selvagens somente em relação ao ácido graxo palmítico (C16:0) e ao DHA (22:6n-3). Almeida e Franco (2007) encontraram maiores teores de linolênico, araquidônico, EPA e DHA na fração fosfolipídica dos músculos de matrinxã (*Brycon cephalus*) cultivados em relação aos selvagens capturados, na época das chuvas.

Por possuir grande quantidade de ácidos graxos da série n-3, a relação n-3/n-6 para a fração polar foi a maior em todos os tecidos e observou-se maior valor médio somente nos ovários dos animais cultivados (1,285) em relação aos animais selvagens (0,833).

Segundo Cejas et al. (2004) a composição de ácidos graxos dos tecidos resulta de uma complexa inter-relação de vários fatores (ácidos graxos presentes na dieta, taxas do catabolismo oxidativo, cinética da dessaturação e alongação e competitivas incorporações e retro conversões entre os ácidos graxos) e ressaltam que muitos detalhes ainda não são completamente entendidos. No entanto, um consenso é certo: a dieta influencia a composição final de ácidos graxos presentes

nos tecidos dos peixes (CEJAS et al., 2004; MOREHEAD et al., 2001; TANAMATI et al., 2009) o que também corrobora com o presente estudo.

6. CONCLUSÕES

- Os peixes alimentados com as dietas com adição de óleos de resíduo de peixe (salmão e tilápia) tiveram efeitos superiores sobre a taxa de fertilização, diâmetro do ovo e comprimento da larva de lambaris, quando comparados à dieta contendo óleo vegetal (soja);
- Os ácidos graxos polinsaturados, principalmente AA, EPA, DHA, estiveram presentes em quantidades maiores nos ovos e larvas do que no músculo das reprodutoras;
- As fêmeas de lambari crescem mais rapidamente que os machos. Apesar das dietas experimentais não proporcionarem diferenças significativas em relação ao crescimento de ambos os sexos, houve aumento dos ácidos graxos da série n-3 (EPA e DHA) para os peixes alimentados com óleo de salmão;
- Os lambaris mobilizam grande quantidade de lipídios para a maturação dos ovários. A dieta comercial fornecida não conseguiu suprir a quantidade mínima de ácidos graxos no lipídio total e frações das fêmeas provenientes do cultivo quando comparadas com as fêmeas selvagens. Essas evidências foram mais marcantes nos ovários, o que pode prejudicar o desenvolvimento embrionário e larval;
- Os lambaris são capazes de alongar e dessaturar ácidos graxos com 18 carbonos na cadeia para a produção de AA, EPA e DHA, haja visto a baixa quantidade desses ácidos graxos na dieta e o posterior aumento nos tecidos;
- Novos estudos devem ser conduzidos para avaliar diferentes níveis de inclusão de lipídios na dieta de lambari em crescimento e reprodução e determinar o tempo necessário de suplementação de óleo de resíduos de peixe (tilápia e/ou salmão) previamente a desova.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKMAN, R.G. Nutritional composition of fats in seafoods. **Progress in Food & Nutrition Science**, v. 13, p. 161–241, 1989.

ADAMS, S. M. Ecological role of lipids in the health and success of fish populations. *In*: ARTS, M.T.; WAINMAN, B.C. **Lipids in Freshwater Ecosystems**. 1ed. New York: Springer, 1999, p. 142-145.

AGOSTINHO, C.A. et al. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (L.) (Osteichthyes-Characidae) do Rio Ivaí, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, v.44, n.1, p.31-36, 1984.

AKPINAR, M.A.; GÖRGÜN, S.; AKPINAR, A.E. A comparative analysis of the fatty acids profiles in the liver and muscle of male and female *Salmo trutta macrostigma*. **Food Chemistry**, v. 112, p.6-8, 2009.

ALMANSA, E. et al. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. **Aquaculture**, v.170, p.323-336, 1999.

ALMANSA, E. et al. Lipid and fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) females in different stages of their reproductive cycle. Effects of a diet lacking in n-3 HUFA. **Journal of Fish Biology**, v.59, p.267–286, 2001.

ALMEIDA, N.M.; FRANCO, M.R.B. Fatty acid composition of total lipids, neutral lipids and phospholipids in wild and farmed matrinxã (*Brycon cephalus*) in the Brazilian Amazon area. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.2596-2603, 2007.

ANDRADE, D.R.; MENIN, E.; RIBEIRO, S.P. Periodicidade da característica sexual secundária em *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 Pisces, Characidae. **Revista Seiva**, v.44, n.93, p.9-12, 1984.

ANDRADE, V.X.L.; HONJI, R.M.; ROMAGOSA, E. Processo de maturação das gônadas de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentado com dois níveis protéicos e suplementados com óleo de milho. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.332-342. 2010.

ARSLAN, M. et al. Effects of different dietary lipid sources on the survival, growth, and fatty acid composition of south American catfish, *Pseudoplatystoma fasciatum*,

surubim, juveniles. **Journal of the world aquaculture society**, v.39, n.1, p.51-61, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 14 ed. Washington, 1995.

BARBIERI, G. Biologia de *Astyanax scabripinnis paranae* (Characiformes, Characidae) do ribeirão do Fazzari. São Carlos. Estado de São Paulo. II. Aspectos quantitativos da reprodução. **Revista Brasileira de Biologia**, v.52, n.4, p.589-596, 1992.

BAYIR, A. et al. Fatty acids of neutral and phospholipids of three endangered trout: *Salmo trutta caspius* Kessler, *Salmo trutta labrax* Pallas and *Salmo trutta macrostigma* Dumeril. **Food Chemistry**, v.119, p.1050-1056, 2010.

BAZAN, N.G. Cell survival matters: docosahexaenoic acid signaling, neuroprotection and photoreceptors. **TRENDS in Neurosciences**, v.29, n.5, p.264-271, 2006.

BAZZOLI, N.; RIZZO, E. Reabsorção de folículos atrésicos em *Astyanax bimaculatus lacustri* (Pisces, Teleostei) mantidos em confinamento. **Bios**, v.2, n.3, p.37-41, 1995.

BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in ten Brazilian teleost fish specie. **European Archives of Biology**, v. 101, n. 4, p.399-410, 1990.

BELAL, I.E.H. A review of some fish nutrition methodologies. **Bioresource Technology**, v.96, p.395-402, 2005.

BELL, J.G.; SARGENT, J.R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. **Aquaculture**, v. 218, p.515-528, 2003.

BENNEMANN, S.T. et al. Ocorrência e ecologia trófica de quatro espécies de *Astyanax* (Characidae) em diferentes rios da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Iheringia**, v.95, n.3, p. 247-254, 2005.

BESSONART, M. et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. **Aquaculture**, v.179, p.265-275, 1999.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BONISLAWSKA, M. et al. Fish egg size variability: biological significance. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, v.4, n.2, 2001..
Disponível em: <<http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>>.
Acesso em: 21 de junho de 2007.

BOSCOLO, W.R. et al. Substituição parcial e total do óleo de soja pelo óleo de tilápia em rações para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n.3, p. 707-712, 2008.

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

CABALLERO, M.J. et al. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 214, p.253– 271, 2002.

CEJAS, J.S. et al. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.138, p.91–102, 2004.

COLEMAN, R. M.; GALVANI, A. P. Eggs size determines offspring size in neotropical cichlid fishes (Teleostei: Cichlidae). **Copeia**, v.1,p.209-213, 1998.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago (Chile): CECTA-USACH, 2002, 308 p.

COTAN, J.L.V. et al. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.634-640, 2006.

CRAIG, S.R. et al. Seasonal changes in the reproductive condition and body composition of free-ranging red drum, (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture**, v.1, p.89–102, 2000.

CRAIG, S.R. Organic aquaculture feeds. **Aqua Feeds: Formulation & Beyond**, v.1, n. 3, p.11–13, 2004.

EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187-196, 2005.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. Effect of *n*-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v.132, p.325-337, 1995.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. **State of world aquaculture 2008**. FAO Fisheries Technical Paper. FAO, Rome. 176 pp, 2008.

FRANCIS, D.S.; TURCHINI, G.M.; JONES, P.L.; DE SILVA, S.S. Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, v.253, p.547-556, 2006.

FURUITA, H.; KONISHI, K.; TAKEUCHI, T. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 170, p.59–71, 1999.

FURUITA, H. et al. Effects of *n*-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 187, p.387–398, 2000.

FURUITA, H. et al. Effect of high levels of *n*-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 210, p.323–333, 2002.

FURUITA, H., et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on larval and egg quality of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 220, p.725–735, 2003.

FURUITA, H. et al. Effect of *n*-3 and *n*-6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel *Anguilla japonica*. **Aquaculture**, v.267, p.55-61, 2007.

GANEKO, L.N.; et al. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba *Brycon orbignyannus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.27, n.2, p.131-138, 2001.

GARUTTI, V. Contribuição ao conhecimento reprodutivo de *Astyanax bimaculatus* em cursos de água da bacia do rio Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, v.49, n.2, p.489-495, 1989.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H.A. 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**, Porto Alegre, 13:65-88, 2000.

GENARI-FILHO, O.; BRAGA, F.M. Fecundidade e desova de *Astyanax bimaculatus* e *A. schubarti* (Characidae, Tetragonopterinae) na represa de Barra Bonita rio Piracicaba (SP). **Revista Unimar**, v.18, n.2, p.241-254, 1996.

GIMÉNEZ, G. et al. Changes in lipid content, fatty acid composition and lipid class composition of eggs and developing larvae (0-40 days old) of cultured common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus 1758). **Aquaculture Nutrition**, v.14, p.300-308, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p. 475-477, 1973.

HAYASHI, C. et al. Frequência de arraçoamento para alevinos de lambaris do rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.21-26, 2004.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: IDRC, 1993, p.144.

HENDERSON, R.J.; SARGENT, J.R.; HOPKINS, C.C.E. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in isolated population of the capelin, during sexual maturation and spawning. **Marine Biology**, v.78, p.255-263, 1984.

HENDERSON, R.J.; TOCHER, D.R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, v.26, p.281-347, 1987.

HENDERSON, R.J.; ALMATAR, S.M. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea harengus*) in relation to gonad maturation. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.69, p.323–334, 1989.

HUYNH, M.D. et al. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 146, p.504–511, 2007.

IHERING, R.V.; AZEVEDO, P. As piabas dos açudes nordestinos (Characidae, Tetragonopterinae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.7, p.75-110, 1936.

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

IZQUIERDO, M.S. et al. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.397-407, 2003.

JUANEDA, P.; ROCQUELIN, G. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. **Lipids**, v.20, n.1, p.40-41, 1985.

LEME DOS SANTOS, H.S.; AZOUBEL, R. **Embriologia comparada**. Jaboticabal:FUNEP, 1996, 189p.

LEMOES, L.F. **Comparação do perfil de ácidos graxos de jundiás, *Rhamdia quelen*, cultivado e selvagem**. 2008. 49f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

LI, M.H.; ROBINSON, E.H.; MANNING, B.B. Nutrition. In: TUCKER, C.S.; HARGREAVES, J.A. Biology and culture of channel catfish. **Developments in Aquaculture and Fisheries Science**, v.34, p.279-323, 2004.

LI, Y. et al. Effects of *n*-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cinctus*. **Aquaculture**, v.245, p.263-272, 2005.

LIMA, F.E.L. et al. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v.13, n.2, p.73-80, 2000.

LÓPEZ, L.M. et al. Effect of dietary lipid levels on performance, body composition and fatty acid profile of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*. **Aquaculture**, v.289, p.101-105, 2009.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267p.

MARCHIOLI R.; BARZI F.; BOMBA, E. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. **Circulation**, v.105, p.1897-1903, 2002.

MARCON, L. **Morfologia ovariana no lambari *Astyanax bimaculatus* sob efeito do hormônio de crescimento**. 2008. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

MARTÍNEZ-LLORENS, S. et al. Effects of dietary soybean oil concentration on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.76-81, 2007.

MARTINO, R.C. et al. Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. **Aquaculture**, v.209, p.233-246, 2002.

MAZZONI, T.S. **Formação do epitélio germinativo durante a morfogênese e diferenciação gonadal em *Cyprinus carpio* (Teleostei: Cypriniformes): análise estrutural das células germinativas e somáticas**. 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MAZZORRA, C. et al. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v.227, p.21-33, 2003.

MELO, F.C.S.A. et al. Biologia reprodutiva de fêmeas de lambari prata (*Astyanax scabripinnis*) (Characidae, tetragonopterinae) em tanques de piscicultura. **Revista Ceres**, v.52, n.304, p.811-829, 2005.

MCGOOGAN, B.B.; GATLIN III, D.M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus* L. Effects of dietary protein and energy levels. **Aquaculture**, v. 178, p.333-348, 1999.

MCGOOGAN, B.B.; GATLIN III, D.M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*: II. Effects of energy level and nutrient density at various feeding rates. **Aquaculture**, v. 182, p.271-285, 2000.

MEURER, F. et al. Nível de arraçoamento para alevinos de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.6, p.1835-1840, 2005.

MNARI, A. et al. Fatty acids in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. **Food Chemistry**, v.100, p.1393–1397, 2007.

MORLEY, S. A. et al. Egg size manipulation: a technique for investigating maternal effects on the hatching characteristics of herring. **Journal of Fish Biology**, v.55, p.233-238, 1999.

MOREHEAD, D.T. et al. Differences in egg quality between wild striped trumpeted (*Latris lineata*) and captive striped trumpete that were fed different diets. **Aquaculture**, v.192, p.9–53, 2001.

MORRISON, W.R.; SMITH, L.M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. **Journal of Lipid Research**, v. 5, p.600-608, 1964.

MOZAFFARIAN, D. et al. Fish Intake and Risk of Incident Heart Failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v.45, v.12, p. 2015-2021, 2005.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. 1. ed. Maringá: EDUEM, 2001, 378 p.

NAVARRO, R.D. et al. Influência do sexo no desempenho de lambari prata (*Astyanax scabripinnis*, Jenyns, 1842). **Zootecnia Tropical**, v.21, n.4, p. 359-369, 2003.

NAVARRO, R.D. et al. Composição morfométrica de índices somáticos de machos e fêmeas do lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) em diferentes sistemas de cultivo. **Zootecnia Tropical**, v.24, n.2, p.165-176, 2006.

NELSON, L.D.; COX, M. M. Lehninger Princípios da Bioquímica 4.ed. São Paulo: Savier, 2006.

NOMURA, H. Comparação dos caracteres merísticos de três espécies de peixes do gênero *Astyanax* Baird & Girard, 1854 (*Osteichthyes, Characidae*) do rio Mogi Guaçu, São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, v.35, n.4, p805-836, 1975.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish**. National Academy Press, Washington, D.C., USA, 1993, 114p

O'NEAL, C.C.; KOHLER, C.C. Effect of replacing menhaden oil with catfish oil on the fatty acid composition of juveniles channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.39, n.1, p.62-71, 2008.

PARRA, J.E.G. et al. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.2011-2017, 2008.

PEREIRA FILHO, H.P. **Biologia reprodutiva de fêmeas de lambari-prata, *Astyanax scabripinnis*, 1842 (Characidae: Teleostei) em condições de cativeiro**. 2000. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

PÉREZ, M.J. et al. Lipid and fatty acid content in wild white seabream (*Diplodus sargus*) broodstock at different stages of the reproductive cycle, **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B 146, p.187–196, 2007.

PICKOVA, J.; MORKORE, T. Alternate oils in fish feeds. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p.256-263, 2007.

PORTO-FORESTI, F. et al. Cultivo do lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Revista Panorama da Aqüicultura**, n.67, p.15-19, 2001.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C.; **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Editora da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. 2006, 92p.

RAINUZZO, J.R.; REITAN, K.I.; OLSEN, Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. **Aquaculture**, v. 155, p.103-115, 1997.

RASO, S.; ANDERSON, T.A. Effects of dietary fish oil replacement on growth and carcass proximate composition of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture Research**, v.34, p.813-819, 2003.

REGITANO-D'ARCE, M.Q.B. Química básica de lipídeos. In OETTERER, M. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006, 612p.

RIBEIRO, P.A.P. et al. Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.8, p.1331-1337, 2008.

SANTOS, R.A. et al. Curvas de maturação gonadal e crescimento de fêmeas de Tambiú, *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Characiformes, Characidae), na represa de Ibitinga, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.18, p.1-11, 1991.

SARGENT, J. et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. **Aquaculture**, v.177, p191-199, 1999.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The Lipids. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish Nutrition**. Elsevier Science: San Diego, 2002, p.181-257

SATO, Y. et al. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.23, n.1, p.267-273, 2006.

SHUKLA, V.KS.; PERKINS, E.G. The presence of oxidative polymeric materials in encapsulated fish oils. **Lipids**, v.26, n.1, p.23-26, 1991.

SINK, T.D.; LOCHMANN, R. T. Effects of dietary lipid source and concentration on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production, and egg and fry quality. **Aquaculture**, v. 283, 68–76, 2008.

STANSBY, M.E. Properties of fish oil and their application to handling of fish to nutritional and industrial use. In: MARTIN, R.E. et al. **Chemistry & biochemistry of marine food products**. Westport: Connecticut, 1982, p.75-92

SAS Institute 1996. SAS® (Statistical Analysis System) User's guide: **Statistics**. Version 9.1, 4^a ed., Cary. NC. 2002

TACON, A.G.J; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. **Aquaculture**, v.285, p.146-158, 2008.

TAKEUCHI, T. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis on fish larvae and fingerlings. **Review in Fisheries Science**, v. 5, p.1–25, 1997.

TANAMATI, A. et al. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p.183-187, 2009.

TOCHER, D.R. et al. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). **Lipids**, v. 20, p. 69–74, 1985.

TURCHINI, G.M.; GUNASEKERA, R.M.; DE SILVA, S.S. Effect of crude oil extracts from trout offal as a replacement for fish oil in the diets of the Australian native fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). **Aquaculture Research**. 34, 697–708, 2003.

TURCHINI, G.M.; FRANCIS, D.S.; DE SILVA, S.S. Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balanced method. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B 144, p. 110-118, 2006.

TURCHINI, G.M.; TORSTENSEN, B.E.; WING-KEONG, N.G. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in aquaculture**, v.1, p.10-57, 2009.

VARGAS, R.J. et al. Replacement of fish oil with vegetable oils in diets for jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard 1824): effects on performance and whole body fatty acid composition. **Aquaculture Research**, v.39, p.657-665, 2008.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM; São Paulo: SBI, 1996. 169p.

VEREGUE, A.M.L.; ORSI, M.L. Biologia reprodutiva de *Astyanax scabripinnis paranae* (Eigenmann) (Osteichthyes, Characidae), do ribeirão das Marrecas, bacia do rio Tibagi, Paraná. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.20, n.1, p.97-105, 2003.

WATANABE, T. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. **Journal of World Aquaculture Society**, v. 24, p.152–161, 1993.

WATANABE, T. Lipid nutrition in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.73, n.1, p.3-15, 1982.

WIEGAND, M.D. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, p.259-286, 1996.

YOKOYAMA M.; ORIGASA, H. Effects of eicosapentaenoic acid on cardiovascular events in Japanese patients with hypercholesterolemia: Rationale, design, and baseline characteristics of the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). **American Heart Association**, v.146, n.4, p.613-620, 2003.

ZAIDEN, S.F. **Morfologia gonadal e metabolismo energético da piraputanga *Brycon hilarii* (Cuvier e Valenciennes, 1894) (Pisces, Characidae) em cativeiro, durante o ciclo reprodutivo anual**. 2000. 152 f. Tese (Doutorado) - Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal, 2000.

ZHUKINSKIY, V.N.; GOSH, R.I. Criteria of biological quality of eggs of commercial fishes and a method for rapid assessment. **Journal of Ichthyology**, v.28, n.6, p.106-114, 1988.