

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ÍNDICES ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ
Rhamdia quelen ALIMENTADAS COM DIFERENTES
NÍVEIS DE PROTEÍNA E LIPÍDIO**

TESE DE DOUTORADO

Ivanir José Coldebella

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**ÍNDICES ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*
ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE
PROTEÍNA E LIPÍDIO**

Ivanir José Coldebella

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal – Nutrição de Peixes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. João Radünz Neto

Santa Maria, RS, Brasil

2010

C688i Coldebella, Ivanir José
Índices zootécnicos, reprodutivos e parâmetros bioquímicos de fêmeas de
lipídio jundiá *Rhamdia quelen* alimentadas com diferentes níveis de proteína e
/por Ivanir José Coldebella. – 2010.
123 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: João Radünz Neto
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de
Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2010

1 . Zootecnia 2. Nutrição 3. Reprodução 4. Ovogênese 5. Larvas
5. Pós-larvas I. Radünz Neto, João II. Título.

CDU 636

Ficha catalográfica elaborada por Denise Barbosa dos Santos – CRB 10/1756
Biblioteca Central UFSM

©2010

Todos os direitos autorais reservados a Ivanir José Coldebella. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Av. São Paulo, Bairro Itapajé, Nº 1061, bloco B / apto. 401, Frederico Westphalen, RS, Brasil, CEP: 98400-000;

Fone: (0xy) 55 3744 6452; Celular: (0xy) 55 9108 4613;

Endereço Eletrônico: coldebella@fw.uri.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**ÍNDICES ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*
ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA E LIPÍDIO**

elaborada por
Ivanir José Coldebella

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

João Radünz Neto, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Danilo Pedro Streit Jr., Dr. (UFRGS)

José Fernando Bibiano Melo, Dr. (UFVSF)

Rafael Lazzari, Dr. (CESNORS/UFSM)

Tatiana Emanuelli, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 16 de dezembro de 2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde.

Aos meus pais Verônica (**in memorian**) e Luiz Coldebella (**in memorian**) pela educação recebida. Tenho certeza que minha mãe me guiou durante esses mais de 100.000 km de estrada percorridos entre Frederico Westphalen e Santa Maria durante o curso.

À minha esposa Ana Julia e ao filho Mateus pela compreensão nos momentos de ausência durante estes quase quatro anos de curso. Amo vocês.

Especialmente ao professor Dr. João Radünz Neto por mais esta orientação, sendo a primeira entre 1997 e 1998, no curso de especialização em Gestão Agropecuária, entre 1999 e 2000 no mestrado em Zootecnia e entre 2007 e 2010 no doutorado em Zootecnia, pelos conhecimentos recebidos, compreensão e amizade. Sou eternamente grato.

À Universidade Federal de Santa Maria, à coordenação e professores do Programa de Pós-Graduação Zootecnia, à dona Olirta, servidora exemplar do PPGZ.

À Direção da URI – Campus de Frederico Westphalen, Polo de Modernização Tecnológica (PMTec), Estação Experimental de Piscicultura pela disponibilização dos laboratórios, professores, funcionários e bolsistas que colaboraram para realização deste trabalho.

Aos professores Tatiana Emanuelli (NIDAL), Carlos Augusto Mallmann (LAMIC), e a todos os acadêmicos e funcionários que colaboraram na realização das análises laboratoriais.

Ao prof. Dr. Leonardo J.G. Barcellos da UPF e seus bolsistas, pelas contribuições e análises realizadas.

Aos colegas da UFSM, Cátia, Giovani, Viviani, Fabio, Alexandra, Suzete, Suziane, Fernanda, Marco e Daniel (Laboratório de Piscicultura/UFSM). Às bolsistas Lilian e Camila (URI), Marcio, André, Moisés (Estação Experimental de Piscicultura/PMTec/URI) e aos guardas do PMTec. Vocês foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

Às empresas MIGPLUS[®] Ltda, Cooperativa Tritícola de Frederico Wesphalen Ltda. (COTRIFRED[®]), Agrobela Alimentos[®] Ltda., Melbond[®] Ltda. pelas matérias primas cedidas gratuitamente, às empresas NUTRON[®] Alimentos Ltda. e Adiseo, pelas análises gratuitas das matérias primas e rações.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela Bolsa produtividade (Pq1D) do Professor João Radünz Neto, à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que contribuíram e não foram nominados, meu muito obrigado.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

ÍNDICES ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA E LIPÍDIO

AUTOR: Ivanir José Coldebella

ORIENTADOR: João Radünz Neto

Data e local da defesa: Santa Maria, 16 de dezembro 2010

Neste estudo avaliaram-se os aspectos zootécnicos, reprodutivos e parâmetros bioquímicos de fêmeas de jundiá alimentadas com três níveis protéicos e lipídicos nas dietas. Foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro realizado entre 15 de julho e 15 de outubro de 2008, seguindo-se um período de mais 14 dias para a criação das pós-larvas. Utilizou-se 66 fêmeas com 14 meses de idade (peso entre 465,1 e 690,3 g). Foram abatidas 18 fêmeas para avaliação dos parâmetros bioquímicos e histológicos e 54 foram distribuídas em seis tanques-rede de 1m³, alimentadas às 9 e 16 h, a vontade, durante 90 dias, com rações peletizadas contendo 28, 34 e 40 % de PB e 14 % de lipídio total. Doze fêmeas foram induzidas à desova para avaliação da reprodução (taxa de fecundação, número de ovos, biometria dos ovos e larvas e crescimento das pós-larvas). No experimento I, os resultados indicaram que o aumento do nível de proteína nas dietas não influenciou os parâmetros zootécnicos, bioquímicos e reprodutivos, no entanto o nível de 28 % de PB mostrou-se superior para o crescimento das pós-larvas nas variáveis peso médio, comprimento total e peso versus sobrevivência aos 14 dias ($P>0,05$). O segundo experimento foi realizado no período entre 15 de julho e 15 de outubro de 2009 e utilizou-se a melhor dieta do experimento I (28 % PB e 14 % de lipídio), fixando-se os níveis em 8, 14 e 20 % de lipídio e 28 % de PB. Neste experimento foram selecionadas 93 fêmeas com 14 meses de idade e peso entre 596,28 e 640,4 g e 66 foram distribuídas em seis tanques-rede e 27 foram abatidas para avaliação dos parâmetros bioquímicos, histológicos e perfil lipídico das gônadas. Para os dois experimentos seguiram-se os mesmos procedimentos, apenas acrescido, no segundo, da avaliação do perfil lipídico dos ovários e músculos. Os resultados do experimento II igualmente não se mostraram diferentes para os parâmetros zootécnicos e bioquímicos, porém houve aumento linear do índice de gordura visceral com o aumento do nível de lipídio nas dietas. O perfil de ácidos graxos não diferiu entre os tratamentos. O diâmetro e a área do ovo foram significativamente menores para o nível de 20 % de lipídio, prejudicando o crescimento, sobrevivência e peso versus sobrevivência das pós-larvas ($P>0,05$). As melhores respostas reprodutivas para fêmeas de jundiá foram obtidas com as dietas contendo 28 % de PB e entre 8 e 14 % de lipídio total.

Palavras chave: Nutrição, reprodução, ovogênese, larvas, pós-larvas.

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Post-Graduate's program of Zootechny
Universidade Federal de Santa Maria

ZOOTECHNICS, REPRODUCTIVE INDEXES AND BIOCHEMICAL'S PARAMETERS OF CATFISHES *Rhamdia quelen* FEMALE FED WITH DIFFERENT LIPIDS' AND PROTEINS' LEVELS

AUTHOR: Ivanir José Coldebella

SUPERVISOR: João Radünz Neto

Defense's local and date: Santa Maria, December 16th, 2010

In this study were evaluated the zootechnics, reproductive aspects and biochemical's parameters aspects of female catfishes fed with three lipids' and proteins' levels on diets. Two experiments were conducted, the first being held between July 15th and October 15th, 2008, followed by a period of 14 days to create the post-larvae. We used 66 females with 14 months old (weight between 465,1 and 690,3g). 18 females were slaughtered for evaluation of biochemical's and histological parameters and 54 were distributed on six 1m³-net cage, fed at 9 a.m. and 4 p.m., at ease, during 90 days, with pelletized rations containing 28, 34 and 40% of PB and 14% of total lipids. Twelve females were induced to spawn to reproductive evaluation (fertilization rate, egg's number, eggs and larvae's biometrics and post-larvae's growth). At experiment I, the results indicated that the increase of protein's level at diet didn't influence the zootechnics, reproductive and biochemical's parameters, however the 28% of PB level was superior for the post-larvae's growth on the variables weight, length and weight versus survival in 14 days. The second experiment was performed between July 15th and October 15th, 2009, and we used the best diet of first experiment (28% of PB and 14% of lipids), settling the 8, 14 and 20% of lipids and 28% of PB levels. In this experiment was selected 93 females with 14 months old and weighting between 596,28 and 640,4g and 66 of which was distributed on six net cages and 27 was slaughtered for evaluation of biochemical's and histological parameters and the gonad's lipid profile. For both experiments were followed the same procedure, just adding, at the second, the evaluation of ovaries and muscles' lipids profile. The results of experiment II also didn't show difference to the zootechnics and biochemical's parameters, but there was a linear increase in visceral fat index with the increased level of lipid in the diets. The fatty acids' profile didn't differ between the treatments, but there was variation in concentration. The egg's diameter and area were significantly smaller to the 20% of lipids' level, damaging the post-larvae's growth, survival and weight versus survival. The best reproductive's answers to catfishes' females were obtained with diets containing 28% of PB and between 8 and 14% of total lipids.

Key words: Nutrition, reproduction, ovogenesis, larvae, post-larvae.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Exigências de aminoácidos essenciais para juvenis de jundiá <i>R. quelen</i> , bagre de canal <i>I. punctatus</i> e tilápia do Nilo <i>O. niloticus</i> expressos em porcentagem da proteína.....	26
Tabela 2	Exigências de ácidos graxos essenciais em porcentual na dieta para juvenis de bagre de canal, tilápia do Nilo, truta arco-íris e carpa comum.....	29
Tabela 3	Composição percentual e química das dietas utilizadas para fêmeas de no experimento I.....	33
Tabela 4	Composição percentual e química da dieta experimental utilizada para pós-larvas de jundiá.....	34
Tabela 5	Valores de peso, comprimento total, fator de condição e índices gonadossomático, hepatossomático e de gordura visceral das fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis de proteína	43
Tabela 6	Taxa de fecundidade, peso do ovo (mg), número de ovos kg de fêmea e número de ovos hidratados por mL de desova de fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis protéicos.....	57
Tabela 7	Medidas morfométricas de ovos e larvas obtidos de fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis de proteína nas dietas.....	58
Tabela 8	Desempenho zootécnico das pós-larvas de jundiá, provenientes de matrizes alimentadas com três níveis de proteína nas dietas.....	59
Tabela 9	Composição percentual e química das dietas com três níveis de lipídio utilizadas para fêmeas de jundiá.....	72
Tabela 10	Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de fêmeas de jundiá (% de ácidos graxos nos lipídios totais).....	77
Tabela 11	Valores de peso, comprimento total, fator de condição e índices gonadossomático, hepatossomático e de gordura visceral das fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis de lipídio da dieta.....	83

Tabela 12	Composição porcentual de ácidos graxos nos lipídios totais dos ovários de fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas, após 90 dias de tratamento.....	90
Tabela 13	Composição porcentual de ácidos graxos nos lipídios totais do músculo dorsal de fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas.....	92
Tabela 14	Taxa de fecundidade, peso do ovo (mg), número de ovos kg de fêmea e número de ovos hidratados por mL de desova de fêmeas de jundiá, em resposta a três níveis de lipídio na dieta.....	98
Tabela 15	Medidas morfométricas de ovos e larvas obtidos de fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis de lipídio na dieta.....	99
Tabela 16	Desempenho zootécnico das pós-larvas de jundiá, provenientes de matrizes alimentadas com 8, 14 e 20 % de lipídio total na dieta.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Testosterona plasmática (T), em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	44
Figura 2	17 β -estradiol plasmático (E ₂), em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	45
Figura 3	Enzima alanina aminotransferase (ALT) em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	46
Figura 4	Enzima aspartato aminotransferase (AST) em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	47
Figura 5	Proteína plasmática total (PPT) em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	48
Figura 6	Triglicerídeos plasmático, em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	49
Figura 7	Aminoácidos livres, em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	50
Figura 8	Aminoácidos totais dos ovários de matrizes de jundiá, coletados no início (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais	51
Figura 9	Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento no dia zero do experimento I.....	53
Figura 10	Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento coletados aos 45 dias no experimento I.....	54

Figura 11	Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento ao final do experimento I (90 dias).....	55
Figura 12	Corte de ovário de jundiá, no estágio V (atrésico), ao final do experimento I (90 dias).....	56
Figura 13	Testosterona plasmática (T) em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	84
Figura 14	17 β -estradiol plasmática (E ₂) em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	85
Figura 15	Proteína plasmática total em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	86
Figura 16	Triglicerídeos plasmáticos, em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	87
Figura 17	Aminoácidos livres, em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	88
Figura 18	Aminoácidos totais dos ovários de matrizes de jundiá, em resposta aos níveis de lipídio nas dietas nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais.....	89
Figura 19	Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento observados no início do experimento II (dia zero).....	94
Figura 20	Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento aos 45 dias experimentais.....	95
Figura 21	Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento ao final do experimento II (90 dias).....	96
Figura 22	Corte de ovário de jundiá, no estágio V (atrésico) observado ao final do experimento II (90 dias).....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – ácido araquidônico
AAL – aminoácidos livres
AG – ácidos graxos
AGE – ácidos graxos essenciais
AGI – ácidos graxos insaturados
AGPI – ácidos graxos poliinsaturados
AL – ácido linoléico
ALN – ácido linolênico
ALT – alanina aminotransferase
AST – aspartato aminotransferase
ASV – área do saco vitelínico
CP – comprimento padrão
CT – comprimento total
DHA – ácido docosahexanóico
DIC – delineamento inteiramente ao acaso
DSV – diâmetro do saco vitelínico
E₂ – estradiol
EB – energia bruta
EHC – extrato hipofisário de carpa
EPA – ácido eicosapentanóico
FC – fator de condição
HUFAS – ácido graxo altamente insaturado
IGS – índice gonadossomático
IGV – índice de gordura visceral
IHS – índice hepatossomático
log_n – logaritmo neperiano
mL – mililitro
nm – nanômetro
P x S – peso versus sobrevivência

P/E – relação proteína/energia

PB – proteína bruta

PMF – peso médio final

PPT – proteína plasmática total

PUFAS – ácidos graxos poliinsaturados

μ – micrômetro

μL – microlitro

r – coeficiente de correlação

r^2 – coeficiente de determinação

T – testosterona

TG – triglicerídeos

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Representação das observações microscópicas dos ovócitos e estádios de maturação ovocitária das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de proteína nas dietas no experimento I.....	122
Anexo 2	Representação das observações microscópicas realizadas ovócitos e estádios de maturação ovocitária das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas no experimento II.....	123

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivo geral	19
2.2	Objetivos específicos	19
3	ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	20
3.1	Caracterização da espécie	20
3.2	Aspectos reprodutivos	20
3.3	Mecanismo hormonal e desenvolvimento ovocitário	21
3.4	Desenvolvimento embrionário	23
3.5	Desenvolvimento larval	23
3.6	Aspectos nutricionais dos reprodutores	24
3.7	Fontes protéicas, proteínas e aminoácidos em dietas para peixes	25
3.8	Lipídios e ácidos graxos em dietas para peixes	27
4	CAPITULO 1 – Experimento I:	
	ASPECTOS ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E PARÂMETROS	
	BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ <i>RHAMDIS</i> <i>QUELENI</i>	
	ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA NA DIETA.	30
4.1	Introdução	30
4.2	Material e métodos	32
4.2.1	Local e época	32
4.2.2	Dietas experimentais	33
4.2.3	Animais e instalações	35
4.2.4	Manejo alimentar dos reprodutores e pós-larvas	36
4.2.5	Biometrias e coletas de vísceras, gônadas e sangue	36
4.2.6	Perfil de testosterona e estradiol	37
4.2.7	Determinação da proteína total, aminoácidos livres e triglicerídeos	37
4.2.8	Aminoácidos totais dos ovários	38
4.2.9	Avaliação histológica das gônadas (ovários)	38
4.2.10	Indução hormonal, desova e coletas de ovos e larvas	39

4.2.11	Biometrias e parâmetros zootécnicos das pós-larvas.....	40
4.2.12	Qualidade da água do reservatório, sistemas de incubação e larvicultura..	41
4.2.13	Delineamento experimental e análise estatística.....	42
4.3	Resultados	42
4.3.1	Desempenho zootécnico e reprodutivo das fêmeas.....	42
4.3.2	Concentração plasmática de esteróides sexuais.....	43
4.3.3	Avaliação histológica das gônadas (ovários).....	51
4.3.4	Desempenho reprodutivo das fêmeas.....	56
4.4	Discussão	59
4.5	Conclusões	66
5	CAPITULO 2 – Experimento II: Aspectos zootécnicos, reprodutivos, parâmetros bioquímicos e perfil de ácidos graxos dos ovários e músculos de fêmeas de jundiá <i>Rhamdia quelen</i> alimentadas com diferentes níveis de lipídio na dieta	67
5.1	Introdução	67
5.2	Material e métodos	70
5.2.1	Local e época.....	70
5.2.2	Dietas experimentais – composição centesimal e perfil de ácidos graxos..	71
5.2.3	Animais, instalações e delineamento experimental.....	73
5.2.4	Manejo alimentar dos reprodutores e pós-larvas.....	74
5.2.5	Biometrias e coletas de vísceras, gônadas e sangue.....	74
5.2.6	Perfil de testosterona e estradiol.....	75
5.2.7	Determinação da proteína total, aminoácidos livres e triglicerídeos.....	75
5.2.8	Aminoácidos totais dos ovários.....	76
5.2.9	Perfil lipídico das dietas.....	76
5.2.10	Avaliação histológica das gônadas (ovários).....	78
5.2.11	Indução hormonal, desova e coletas de ovos e larvas.....	78
5.2.12	Biometrias e parâmetros zootécnicos das pós-larvas.....	79
5.2.13	Qualidade da água do reservatório, sistemas de incubação e larvicultura..	80
5.2.14	Delineamento experimental e análise estatística.....	81
5.3	Resultados	82

5.3.1	Desempenho zootécnico das fêmeas.....	82
5.3.2	Parâmetros bioquímicos das fêmeas.....	83
5.3.3	Perfil lipídico dos ovários e músculo.....	89
5.3.4	Avaliação histológica das gônadas (ovários).....	92
5.3.5	Desempenho reprodutivo das fêmeas.....	97
5.3.6	Crescimento das pós-larvas provenientes das matrizes alimentadas com diferentes níveis de lipídio nas dietas.....	100
5.4	Discussão.....	101
5.5	Conclusões.....	107
6	CONCLUSÕES GERAIS.....	108
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
	ANEXOS.....	122

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os pesquisadores afirmam que o Brasil possui uma grande capacidade de produção de peixes levando-se em consideração as condições favoráveis como a água em quantidade e qualidade e o clima propício, aliados ao desenvolvimento de técnicas de manejo e nutrição.

De acordo com Ministério da Pesca e Aquicultura (2010), a região Sul do Brasil obteve o maior crescimento de peixes cultivados em água doce, com um aumento aproximado de 78 % entre 2007 e 2009, passando de 64.483,5 toneladas para 115.083,6 toneladas, respectivamente.

Dentre as espécies cultivadas está o jundiá *Rhamdia quelen*, com excelentes características produtivas e boas condições climáticas para sua criação no sul do Brasil. Os dados mais recentes de produção registrados pelo IBAMA (2005), colocam o jundiá como a terceira espécie nativa mais produzida no estado do Rio Grande do Sul com 358 toneladas/ano. Estatísticas anteriores divulgadas pela EMATER (1995) indicavam uma produção de 147,79 toneladas.

Com o aumento da demanda de alevinos dessa espécie verificado nas estações de piscicultura, necessita-se maximizar a produção de alevinos através de uma reprodução eficiente e especialmente desenvolver dietas adequadas que atendam as exigências nutricionais dos reprodutores. No mercado brasileiro para a maioria das espécies de peixes, ainda não existem rações específicas para serem usadas na alimentação dos reprodutores. Atualmente, as rações utilizadas são as que normalmente os piscicultores adquirem no comércio. Estas são destinadas aos peixes nas fases de recria e engorda, o que se constitui em uma preocupação, pois provavelmente vêm comprometendo o desempenho reprodutivo dos animais e conseqüentemente aumentando o custo de produção dos alevinos.

A relação entre a nutrição e a reprodução poderá fornecer importantes subsídios aos fabricantes para oferta de rações específicas, o que irá melhorar o índice reprodutivo desta importante espécie como forma de aumentar a qualidade dos alevinos disponibilizados aos piscicultores. Vários estudos têm sido realizados na

Universidade Federal de Santa Maria com fontes e níveis de proteína para as fases de pós-larvas, alevinos, juvenis e matrizes de jundiá obtendo-se bons resultados no seu desempenho. Uliana et al. (2001) e Melo et al. (2002), trabalharam com fontes de lipídio na larvicultura e alevinos, respectivamente; Coldebella e Radünz Neto (2002) e Lazzari et al. (2006) trabalharam com fontes protéicas para alevinos e juvenis respectivamente; Parra (2007) trabalhou com fontes de proteína para fêmeas reprodutoras de jundiá e Lazzari et al. (2008) trabalhou com densidade de estocagem, níveis protéicos e lipídicos na dieta na produção e aceitabilidade do filé de jundiá. Entretanto, até o presente momento não são conhecidos trabalhos que avaliem níveis de proteína e lipídios na dieta de matrizes de jundiá *R. quelen*, existindo desta forma, a necessidade da continuidade da pesquisa relacionando a nutrição com a reprodução.

Através da pesquisa de campo e da literatura especializada na área, neste estudo busca-se avaliar a relação entre níveis de proteína e lipídio adequados à reprodução do jundiá. Este trabalho está organizado em dois capítulos e cada capítulo é composto por um experimento que compreende as fases de alimentação das matrizes, reprodução e crescimento das pós-larvas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o desenvolvimento zootécnico e reprodutivo de fêmeas de jundiá *R. quelen* com a inclusão de diferentes níveis protéicos e lipídicos na ração.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o desenvolvimento corporal relacionado à maturação gonadal de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes níveis protéicos e lipídicos na ração;

Analisar os parâmetros bioquímicos 17β -estradiol, testosterona, triglicerídeos, proteína total e aminoácidos livres decorrentes dos níveis de proteína e lipídios na ração;

Verificar o efeito dos níveis de proteína e lipídios sobre os índices reprodutivos de fêmeas de jundiá;

Analisar o desenvolvimento gonadal das fêmeas de jundiá relacionados aos níveis protéicos e lipídicos utilizados na ração;

Avaliar quali-quantitativamente a produção e desenvolvimento ovocitário, embrionário, larval e pós-larval de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes níveis de proteína e lipídios na ração.

3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Caracterização da espécie

O jundiá *R. quelen* (Quoy e Gaimard, 1824) pertence à família Heptapteridae conforme sistemática descrita por Bockmann e Guazzelli (2003). É uma espécie nativa do Brasil, podendo ser encontrada desde o sudeste do México ao centro da Argentina. É um peixe de couro cuja cor varia de marrom-avermelhado a cinza escuro, com a parte ventral do corpo mais clara (Silfvergrip, 1996), podendo atingir 65,5 cm nas fêmeas e 52 cm nos machos (Gomes et al., 2000).

No ambiente natural tem hábito alimentar onívoro com forte preferência por peixes, sendo generalista na escolha do alimento, consumindo também outros itens da fauna aquática como crustáceos, insetos, detritos orgânicos e restos vegetais (Guedes, 1980).

Esta espécie de água doce é destacada por vários pesquisadores como importante para a piscicultura, pois é de fácil manejo, rústica, de rápido crescimento, suporta baixas temperaturas e, além disso, possui boa aceitação junto ao mercado consumidor (Gomes et al., 2000; Baldisserotto e Radünz Neto, 2004).

3.2 Aspectos reprodutivos

Na natureza os machos e fêmeas de jundiá estão aptos a se reproduzirem com aproximadamente um ano de idade, com maturação sexual iniciando aos 13,4 cm nos machos e 16,5 cm nas fêmeas (Silva, 2004). A reprodução ocorre em águas com temperatura de 22 a 25 °C, coincidindo com o início da primavera (Guedes, 1980), sendo uma espécie ovulípara e não apresenta cuidado parental (Gomes et al., 2000). O jundiá possui desova assincrônica ou parcelada, apresentando longo período

reprodutivo e dois picos de desenvolvimento gonadal por ano, que podem variar a cada ano e de um lugar para outro (Gomes et al., 2000).

Bossemeyer & Hall (1980), observaram em jundiá *R. sapo* (sinonímia de *R. quelen*, segundo Silfvergrip, 1996) proveniente de rios e açudes próximos da cidade de Santa Maria, no Rio Grande do Sul, um período reprodutivo que se estendeu de agosto até fevereiro e evidenciou dois picos de desenvolvimento gonadal nos meses de agosto-setembro e janeiro-fevereiro.

Barcellos et al. (2001) concluíram que *R. quelen* possui dois picos com maior índice gonadossomático, nos meses de outubro, representando 12,28 % e dezembro 9,1 % em relação ao peso corporal das fêmeas analisadas. No entanto Rocha et al. (2005), registraram apenas um pico reprodutivo nesta espécie (setembro-outubro) e o período reprodutivo iniciando em setembro e se estendendo até abril.

3.3 Mecanismo hormonal e desenvolvimento ovocitário

Os processos reprodutivos normalmente apresentam ritmos endógenos sincronizados com fatores ambientais, de modo que o período de reprodução ocorra em uma época favorável que garantirá o desenvolvimento da prole (Vazzoler, 1996; Furuya & Furuya, 2001; Baldisserotto, 2002).

As alterações de fatores ambientais, como fotoperíodo e temperatura, chegam ao cérebro ou diretamente ao hipotálamo através de estímulos nervosos, alterando a produção e secreção dos hormônios hipotalâmicos como o GnRH liberador das gonadotrofinas e GnIF com ação antagônica à síntese e liberação das gonadotrofinas (Furuya & Furuya, 2001). A estimulação das células gonadotróficas da glândula hipófise pelo GnRH resulta na secreção da gonadotrofina I (GtH I) e gonadotrofina II (GtH II), sendo a GtH I responsável pelo estímulo do crescimento gonadal, a gametogênese e a entrada de vitelogenina no ovócito e a GtH II importante para a maturação final dos ovócitos e desova (Baldisserotto, 2002). A vitelogênese está associada ao aumento de gonadotrofinas que induzem a produção de estradiol, que por sua vez irá estimular a

síntese e liberação da vitelogenina pelo fígado promovendo a incorporação de vitelo e consequente aumento do tamanho do ovócito (Jobling et al., 1995; Furuya & Furuya, 2001).

O processo de maturação ovocitária que culmina com a reprodução é dependente da fonte energética e dos nutrientes necessários a partir do alimento ingerido ou de reservas energéticas depositadas em diferentes partes do organismo do peixe (Vazzoler, 1996).

Os peixes de água doce normalmente apresentam cinco estádios ovocitários, e para o jundiá, de acordo com Ghiraldelli et al. (2007), pode-se adotar quatro estádios de desenvolvimento e o V estágio como sendo de regressão descrito por Ganeco et al. (2001), onde: Estádio I – Imaturo, os ovários apresentam lamelas ovígeras estreitas recobertas por células basófilas, com ovócitos perinucleolares iniciais e cromatina nucleolares. Estádio II – Maturação inicial, onde apresenta poucos ovócitos cromatino nucleolares, mas predominam os ovócitos perinucleolares avançados e corticais alveolares. A membrana vitelínica é evidente estando rodeada por células foliculares cúbicas. Estádio III – Maturação intermediária, onde ainda se encontram os estádios da fase anterior, entretanto o predomínio é de ovócitos corticais alveolares e vitelogênicos de vários tamanhos, as células foliculares tornam-se mais altas e evidentes. Estádio IV – Maduro, encontram-se ovócitos perinucleolares avançados, mas há um predomínio de ovócitos vitelogênicos de vários tamanhos, repletos de grânulos de vitelo, as células foliculares tornam-se hipertróficas. Estádio V – Regressão, os ovócitos perdem sua forma típica, este processo promove a reabsorção dos ovócitos vitelogênicos não desovados, podendo ocorrer durante qualquer fase do desenvolvimento gonadal.

Crepaldi et al. (2007), argumentaram que a classificação dos diferentes estádios de maturação é variável de acordo com diferentes autores e que tal variação é inerente às metodologias empregadas, refletindo em maior ou menor número de subdivisões. Destacam ainda, que todas as classificações dos estádios seguem uma escala universal, modificada de acordo com as características específicas para cada grupo de espécies.

3.4 Desenvolvimento embrionário

O processo embrionário inicia-se com a fecundação do óvulo pelo espermatozóide, via micrópila. Após a fertilização, o ovo absorve água e ocorre a formação do espaço perivitelíneo, com a separação do córion da membrana vitelina. Os ovos dos peixes são telolécitos, com um elevado suprimento de vitelo, do qual o embrião nutrir-se-á durante a embriogênese, e que é também utilizado para nutrir a larva durante algum tempo após a eclosão (Nakatani et al, 2001).

Para Ojanguren & Braña (2003), os eventos ontogenéticos iniciais como o aparecimento e desenvolvimento estrutural, a eclosão e o início da alimentação exógena são usados para identificar o desenvolvimento em peixes.

O jundiá apresenta o mesmo padrão de desenvolvimento embrionário de outros peixes (Silva, 2004). Os ovos recém-fecundados possuem diâmetro médio de 1,54 mm (Parra, 2007), ocorrendo a eclosão das larvas em 36 horas após a fertilização em temperatura da água de 24 °C (Silva et al., 2003).

3.5 Desenvolvimento larval

O conhecimento do desenvolvimento larval de peixes é importante principalmente na determinação do momento de reabsorção do saco vitelínico e da abertura da boca, indicadores da necessidade de alimentação exógena. O desenvolvimento morfológico na fase larval é caracterizado por processos rápidos, pois quando as larvas eclodem ocorrem rapidamente mudanças na forma do corpo, no metabolismo, habilidade natatória e comportamental. O reconhecimento do padrão normal de desenvolvimento e detecção de defeitos durante a formação, pode ser utilizado para melhorar as técnicas na larvicultura através da modificação de parâmetros ambientais e alimentares (Bengston, 1999; Gisbert et al., 2002).

Em *R. quelen*, o desenvolvimento larval ocorre entre o 3º e 5º dia dependendo da temperatura da água, contudo, no quarto dia após a eclosão o saco vitelínico é totalmente absorvido (Gomes et al., 2000), o trato digestório torna-se funcional e a bexiga natatória é visível sendo necessário fornecer alimento vivo (natural) ou artificial (rações) (Radünz Neto, 2004).

3.6 Aspectos nutricionais dos reprodutores

A nutrição de reprodutores é sem dúvida uma das áreas menos estudadas, devido à necessidade de manter grandes grupos de peixes adultos em viveiros, com elevados custos de longos períodos de ensaios alimentares. Também, como em outros animais, é evidente que muitas das deficiências e dos problemas encontrados durante as fases iniciais estão diretamente relacionadas com o regime de alimentação (incluindo nível nutricional e duração) dos reprodutores (Izquierdo et al., 2001).

O desenvolvimento de dietas equilibradas irá evitar potenciais problemas reprodutivos (Ling et al., 2006). Além disso, uma adequada nutrição possui estreita relação com a preservação do meio ambiente, uma vez que a fração não digerida ou que não é consumida, pode levar à excessiva eutrofização, que afeta de forma direta e indireta o desempenho produtivo e reprodutivo dos peixes (Furuya, 2001).

Uma dieta adequada e de qualidade, está relacionada a um aumento de produção de vitelogenina e conseqüente acúmulo de vitelo no ovócito o que permitirá uma maior sobrevivência do embrião e das larvas (Khan et al., 2004; Silva, 2004).

Alguns estudos demonstraram que o desempenho reprodutivo e a qualidade dos ovos de peixes são influenciados por nutrientes como proteína, lipídios, minerais e vitaminas (Khan et al., 2005). Estes autores ponderam, que as proteínas e os lipídios são os principais componentes do saco vitelínico e executam funções importantes na reprodução, além disso, as proteínas atuam como fontes de aminoácidos e são reservatórios de substâncias usadas durante a biossíntese dos estágios iniciais da embriogênese.

3.7 Fontes protéicas, proteínas e aminoácidos em dietas para peixes

A garantia de obtenção de uma ótima resposta produtiva e máximo crescimento dos peixes depende do atendimento das necessidades protéico-energéticas e demais nutrientes essenciais nas proporções requeridas (Pezzato, 1996).

De acordo com Izquierdo et al. (2001), a proteína, os lipídios, os ácidos graxos, as vitaminas C e E e os carotenóides são os nutrientes que mais influenciam nos processos reprodutivos dos peixes como a fecundidade, fertilização, nascimento e desenvolvimento das larvas.

Geralmente o coeficiente de digestibilidade das proteínas para peixes é superior a 90 %, sendo independente da quantidade ingerida ou da temperatura, podendo existir pequenas variações entre as espécies e tamanho do peixe (Guillaume & Choubert, 2001). As dietas para peixes são tradicionalmente formuladas à base de farinha de peixe como fonte protéica, tendo em vista seu alto valor nutritivo e palatabilidade. Porém o elevado custo, disponibilidade e qualidade da matéria prima tem sido motivo de reflexão para os nutricionistas (Coldebella & Radünz Neto, 2002). Neste sentido, El Sayed (1998), concluiu que a farinha de peixe pode ser substituída totalmente pela farinha de carne e ossos em dietas para tilápia do Nilo sem afetar seu crescimento, porém pode haver variações na composição nutricional desta matéria prima, induzindo a respostas diferentes.

Pongmaneerat & Watanabe (1993), trabalharam com alevinos de carpa *Cyprinus carpio* e trutas *Oncorhynchus mykiss* e concluíram que o farelo de soja constitui em boa alternativa como fonte protéica para ambas, porém salientam que existe a necessidade de suplementação dos seguintes aminoácidos essenciais: lisina, arginina, cistina e triptofano. Para Furuya (2001) e Murray et al. (2010), o farelo de soja vem sendo empregado com resultados satisfatórios em dietas comerciais para peixes, pela disponibilidade e menor custo comparado à farinha de peixe. Caracteriza-se pelo elevado nível protéico e razoável balanço de aminoácidos essenciais, principalmente lisina. A metionina e cistina estão presentes em quantidades relativamente baixas em relação às exigências de muitas espécies, e também se faz necessário um adequado

tratamento térmico ao produto, para destruição dos fatores antinutricionais como os inibidores de tripsina (Furuya, 2001).

Para os peixes, os aminoácidos, ao invés da glicose, são utilizados preferencialmente como fonte de energia, pois ao contrário dos mamíferos e das aves, eles utilizam pequena quantidade de glicose como substrato para oxidação celular (Médale & Guillaume, 2001). Além disso, os aminoácidos são usados para síntese corporal e atuam como precursores de uma grande variedade de outros compostos nitrogenados como hormônios, ácidos nucleicos, aminas e peptídeos (Mambrini & Guillaume, 2001).

Na Tabela 1, são apresentadas as exigências de aminoácidos essenciais para juvenis de jundiá *R. quelen*, bagre de canal *Ictalurus punctatus* e tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. Comparando-se estas espécies, observa-se que o jundiá é mais exigente em aminoácidos essenciais.

Tabela 1 – Exigências de aminoácidos essenciais para juvenis de jundiá *R. quelen*, bagre de canal *I. punctatus* e tilápia do Nilo *O. niloticus* expressos em porcentagem da proteína.

Espécie	Aminoácidos									
	Arg	His	Ile	Leu	Lis	Met*	Fen*	Tre	Trp	Val
Jundiá ^{1,2}	5,50	2,10	5,50	9,10	5,30	4,30	6,20	5,10	1,00	5,40
Bagre de canal ³	4,30	1,50	2,60	3,50	5,10	2,30	5,00	2,00	0,50	3,00
Tilápia ³	4,20	1,72	3,11	3,39	5,12	2,68	3,75	3,75	1,00	2,80

*Valores de metionina representa metionina+cistina e fenilalanina representa fenilalanina+tirosina.

¹Montes-Girao & Fracalossi (2006).

²Requerimento estimado através de regressão segmentada.

³NRC (1993).

Em rações comerciais, a proteína é responsável por grande parte dos custos, além disso, a fração protéica serve como fonte de energia para os peixes. No entanto, ela pode ser poupada pelo uso de nutrientes não protéicos como os lipídios, diminuindo os custos e maximizando a retenção de nitrogênio (Shiau, 2002). Médale & Guillaume (2001), salientam que os ácidos graxos contribuem para produção de ATP e quando em níveis elevados na dieta, diminuem a oxidação dos aminoácidos, resultando em efeito poupador de proteína.

3.8 Lipídios e ácidos graxos em dietas para peixes

O suprimento de lipídios nas dietas dos peixes é necessário para satisfazer suas exigências em ácidos graxos essenciais, importantes no metabolismo celular (síntese de prostaglandinas e de compostos similares) além da manutenção da estrutura, flexibilidade e permeabilidade das membranas. Atuam também como transportadores durante a absorção intestinal de vitaminas lipossolúveis e carotenos, além de melhorar o sabor e aroma da dieta (Steffens, 1987; Sargent et al., 1999; Corraze, 2001; Shiau, 2002).

A deficiência de ácidos graxos essenciais em período que antecede a desova causa significativa redução na produção de ovos, menor índice de eclosão, além de várias deformidades morfológicas e um limitado número de larvas sobreviventes (Corraze, 2001). Em uma pesquisa realizada por essa autora, com trutas submetidas a um período forçado de fome, resultou em insuficientes reservas ocasionando uma diminuição da fecundidade e baixa produção de ovos.

Embora a presença de lipídios na dieta, mesmo em concentrações elevadas, não afete o coeficiente de digestibilidade das proteínas (Guillaume & Choubert, 2001), uma excessiva quantidade de lipídios pode conduzir a uma diminuição do consumo de alimento, reduzindo a ingestão de outros nutrientes (Ling et al., 2006).

Melo et al. (2000), testaram fontes e níveis de lipídios para alevinos de jundiá (*R. quelen*) e concluíram que a banha suína, o óleo de soja e o óleo de canola foram considerados eficientes como ingredientes nas dietas utilizadas, devendo-se levar em consideração o menor custo da fonte de lipídio. Semelhantes a esses resultados, porém trabalhando com tilápia nilótica *O. niloticus*, Nwana & Bolarinwa (2000), não encontraram diferença significativa para coeficiente de digestibilidade aparente, índice de crescimento específico, percentagem de ganho de peso, índice de eficiência protéica e conversão alimentar aparente utilizando óleo de bacalhau, óleo de soja e óleo de palmeira como fontes lipídicas em dietas para essa espécie e também argumentam que deve ser levado em conta o custo das dietas.

Referindo-se à percentagem de lipídio na dieta, Furuya (2001) afirma que sua inclusão deve variar em função da relação proteína:energia e do tipo de lipídio utilizado, uma vez que a deficiência não permite uma adequada retenção de proteína, enquanto que o excesso pode elevar o conteúdo de gordura visceral. Meyer & Fracalossi (2004), ponderam que para jundiá o nível de lipídio e a concentração energética da dieta têm correlação direta com a deposição de gordura na carcaça.

A composição dos ácidos graxos dos tecidos e dos ovos dos peixes em geral, reflete o índice de ácidos graxos supridos na dieta dos reprodutores (Fernández-Palacios et al., 1997; Corraze, 2001).

Os ácidos graxos da série n-3: linolênico (ALN), eicosapentanóico (EPA), docosahexanóico (DHA) e os ácidos graxos da série n-6: linoléico (AL) e araquidônico (AA) assumem importantes funções na reprodução dos peixes, na viabilidade de ovos e larvas, maior tolerância ao estresse e sobrevivência durante a metamorfose larval (Sargent et al., 1999; Wiegand et al., 2004; Pickova et al., 2007). Os peixes cultivados apresentam variações quanto às exigências em lipídios, sobretudo na sua composição e relação de ácidos graxos essenciais das séries n-3 e n-6. Em geral, conforme Steffens (1997), os peixes de água doce apresentam menor relação n-3:n-6, que pode ser de 1:4, enquanto para peixes marinhos essa relação é alta podendo variar de 5-10:1. Em peixes marinhos as dietas naturais proveniente do fitoplâncton são mais abundantes em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS) de cadeia longa da série n-3 (Corraze, 2001) e peixes carnívoros no ambiente de água marinha dependem de uma dieta rica em ácidos graxos altamente insaturados (n-3) (HUFAS) especialmente EPA e DHA (Sargent et al., 1999). Já em peixes de água doce as dietas naturais são compostas de fitoplâncton, crustáceos e larvas de insetos ricos em AL n-6, ALN n-3 e EPA n-3 (Steffens, 1997).

Em bagre de canal *I. punctatus*, com hábitos alimentares semelhantes ao jundiá, Satoh et al. (1989) comprovaram que a suplementação de 1 a 2 % de ácidos graxos da série n:3: ácido linolênico (18: 3n-3) e 0,5 a 0,75 % de EPA (20: 5n-3) e DHA (22:6 n-3) na dieta contendo 5 % de lipídio total, promoveram um melhor ganho de peso para alevinos dessa espécie.

Na Tabela 2, podem ser observados os valores de requerimentos de ácidos graxos essenciais determinados para algumas espécies de água doce.

Tabela 2 – Exigências de ácidos graxos essenciais em porcentual na dieta para juvenis de bagre de canal, tilápia do Nilo, truta arco-íris e carpa comum.

Requerimentos	Espécies			
	Bagre de canal ¹	Tilápia do Nilo ²	Truta arco-íris ²	Carpa comum ²
Ácidos graxos da série n-3				
Ácido linolênico (ALN)	1-2	nd*	0,8-1,7	1
Ácido eicosapentanóico (EPA)	0,5-0,75	nd*	nd*	nd*
Ácido docosahesanoico (DHA)	0,5-0,75	nd*	nd*	nd*
Ácidos graxos da série n-6				
Ácido linoléico (AL)	nd*	0,5	nd*	1
Ácido araquidônico (AA)	nd*	nd*	nd*	nd*

¹Satoh et al. (1989).

²NRC (1993).

*nd: não determinado.

Historicamente os óleos de peixe têm sido usados como fonte de lipídio nas dietas para peixes, sendo extraídos de pequenos peixes pelágicos marinhos. No entanto, com a redução destes estoques naturais, os custos dessa matéria prima tornaram-se elevados, necessitando-se avaliar fontes alternativas para esses óleos, possibilitando a expansão da indústria global de aquicultura (Ng et al., 2004).

Mourente et al. (2005), argumentaram que pesquisas vêm sendo realizadas com fontes alternativas de lipídios para substituir os óleos vegetais, como os óleos de soja, oliva, linhaça e canola. Os óleos vegetais são ricos em ácidos graxos essenciais especialmente da série n-6 (AL) e menor quantidade de ácidos graxos n-3 (ALN), que por ação das enzimas dessaturases e elongases os peixes são capazes de produzir ácidos graxos altamente insaturados (HUFAS) (Sargent et al., 1999).

As argumentações enfatizadas, demonstram a necessidade de investigação de níveis protéicos e lipídicos nas dietas em respostas reprodutivas de fêmeas de *R. quelen* como forma de maximizar a produção de alevinos desta espécie nativa.

4 CAPITULO 1 – Experimento I

ASPECTOS ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ ALIMENTADAS COM TRÊS NÍVEIS DE PROTEÍNA NA DIETA.

4.1 Introdução

O jundiá *R. quelen* tem ampla distribuição geográfica na América do Sul, é encontrado desde o Sudeste do México à região Central da Argentina, sendo um peixe economicamente importante no Brasil (Gomes et al., 2000; Baldisserotto & Radünz Neto, 2005). Nos sistemas de cultivo em densidade de dois a quatro peixes por metro quadrado pode alcançar entre 600-800 g de peso corporal em 8 meses (Barcellos et al., 2001).

A maturidade sexual do jundiá é atingida com um ano de idade em ambos os sexos e os reprodutores quando em bom estado nutricional podem alcançar elevados índices de eclosão em resposta à indução hormonal (Gomes et al., 2000). Possui desova assincrônica com período reprodutivo prolongado, de agosto a março, podendo ocorrer variações a cada ano e de um lugar para outro (Narahara et al., 1985; Gomes et al., 2000).

Com o aumento da demanda de alevinos para cultivo dessa espécie, necessita-se maximizar sua produção através de uma reprodução eficiente e especialmente desenvolver dietas adequadas que atendam os requerimentos nutricionais dos reprodutores.

A nutrição de reprodutores é sem dúvida uma das áreas menos estudadas, devido à necessidade de manter grandes grupos de peixes adultos em viveiros, com elevados custos de longos períodos de ensaios alimentares. Além disso, as diferenças biológicas, os mecanismos reprodutivos, como a maturação gonadal, o sucesso na fertilização e a qualidade das larvas são processos extremamente complexos (Izquierdo et al., 2001; Chong et al. 2004; Khan et al., 2005). O desenvolvimento gonadal e a

fecundidade são afetados por certos nutrientes na dieta, especialmente em reprodutores com desova contínua e curtos períodos vitelogênicos (Izquierdo et al., 2001). Esses autores evidenciam que também, como em outros animais, muitas das deficiências e dos problemas encontrados durante as fases iniciais estão diretamente relacionadas com o regime de alimentação (incluindo nível nutricional e duração) dos reprodutores.

O efeito da nutrição é significativo na maturação gonadal e fecundidade dos peixes. As proteínas e os lipídios são os principais componentes do saco vitelínico e atuam como fontes de aminoácidos e reservatórios de substâncias usadas durante a biossíntese dos estágios iniciais da embriogênese (Khan et al., 2005) e permitirão uma maior sobrevivência do embrião e das larvas (Silva, 2004). De acordo com Brooks et al. (1997), as proteínas estão presentes nos ovos de peixes como lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade do ovo e conseqüentemente a produção de larvas e alevinos em larga escala.

A proteína é o nutriente com maior custo no preparo de dietas (Abdel-Tawwab et al, 2010), além disso, a fração protéica serve como fonte de energia para os peixes (Médale & Guillaume, 2001). No entanto, ela pode ser poupada pelo uso de nutrientes não protéicos como os lipídios, diminuindo os custos e maximizando a retenção de nitrogênio (Médale & Guillaume, 2001; Shiau, 2002).

Em geral, o estado nutricional da fêmea pode influenciar o desenvolvimento gonadal e limitar a quantidade e qualidade da ova (Johnston et al., 2007; De Silva et al. 2008). Gunasekera et al. (1996), asseguram que o nível de proteína da dieta influencia na viabilidade da progênie, sendo que níveis muito baixos (10 a 20 %) resultam em baixas taxas de fertilização dos ovos e grande porcentagem de larvas deformadas.

A vitelogênese é um processo de incorporação de nutrientes nos ovócitos e o mecanismo se dá através dos esteróides sexuais, como a testosterona, que é precursor da biossíntese de estradiol (Guzmán et al., 2008), que por sua vez irá estimular a síntese e liberação de vitelogenina pelo fígado, promovendo a incorporação de vitelo e conseqüente aumento do tamanho do ovócito (Jobling et al., 1995).

Entretanto, em espécies brasileiras, poucos estudos têm avaliado o efeito do nível de proteína no desempenho reprodutivo de peixes, especialmente do jundiá. O

objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do nível de proteína da dieta sobre o desempenho zootécnico, reprodutivo e parâmetros bioquímicos de fêmeas de jundiá.

4.2 Material e métodos

Todos os procedimentos envolvendo os animais foram conduzidos de acordo com as normas aprovadas pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Universidade Federal de Santa Maria, sob número 23081.006974/2009-96.

4.2.1 Local e época

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental de Piscicultura, do Polo de Modernização Tecnológica do Médio Alto Uruguai – Universidade Regional Integrada do Médio Alto Uruguai - Campus de Frederico Westphalen, Rio Grande do Sul, Brasil, (27°38'S e 53°43'O), entre 15 de julho e 18 de outubro de 2008, compreendendo o período de alimentação dos reprodutores e nascimento das larvas, e no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, (29°43'S e 53°42'O), no período pós-larval, durante 14 dias. A escolha do período de desova foi estabelecida de acordo com Barcellos et al. (2001), que concluíram que *R. quelen* possui dois picos com maior índice gonadossomático, nos meses de outubro, representando 12,28 % e dezembro 9,1 % em relação ao peso corporal das fêmeas analisadas, desta forma optou-se pelo mês de maior pico.

4.2.2 Dietas experimentais

Foram avaliadas três dietas contendo 28 %, 34 % e 40 % de proteína bruta e isoenergéticas com 4000 kcal kg⁻¹ de energia bruta (Tabela 3). Os ingredientes das dietas para as fêmeas a partir da formulação foram pesados, misturados até a completa homogeneização em misturador elétrico tipo amassadeira, com adição de água (50 % sobre o peso seco dos ingredientes), a massa resultante foi peletizada em máquina de moer carne formando fios, em seguida levada à estufa com circulação de ar forçado entre 48 e 50 °C por 48 horas, após foram moídas em triturador manual, peneiradas entre 6-8 mm, sendo parte (30 %) armazenada em ambiente seco e ventilado e o restante armazenado em freezer (-20 °C).

Tabela 3 – Ingredientes e composição percentual e química das dietas utilizadas para fêmeas de jundiá no experimento I*.

Ingredientes (%)	Níveis de proteína (%)		
	D28 ¹	D34 ¹	D40 ¹
Farinha de carne suína	24,10	32,50	41,10
Farelo de soja	24,10	32,50	41,10
Farelo de arroz desengordurado	22,28	14,48	3,90
Milho amarelo	19,20	9,90	3,00
Óleo de soja	7,30	7,90	8,20
Calcário calcítico	0,60	0,20	-
DL-Metionina (99%)	0,42	0,52	0,70
Cloreto de sódio (NaCl)	0,50	0,50	0,50
Vitaminas e minerais ²	1,50	1,50	1,50
Aglutinante ³	1,50	1,50	1,50
Composição centesimal analisada (%)			
Nutrientes			
Matéria seca ⁴	92,84	92,34	93,23
Proteína bruta ⁴	28,50	34,14	40,60
Energia bruta (kcal/kg) ⁵	4.000	4.000	4.000
Energia bruta (kcal/kg)/proteína (g)	14,03	11,71	9,85
Lipídio total ⁴	14,22	16,21	15,32
Extrato não nitrogenado ⁵	33,06	25,58	18,11
Matéria mineral ⁴	10,96	11,72	12,33
Fibra bruta ⁴	4,14	3,91	3,70
Cálcio ⁴	1,83	2,03	2,60
Fósforo (total) ⁴	1,62	1,57	1,65
Lisina ⁶	1,47	1,85	2,21
Metionina+cistina ⁶	1,22	1,46	1,70

Triptofano ⁵	0,27	0,33	0,38
Treonina ⁶	0,61	1,20	1,40
Arginina ⁶	2,03	2,51	2,96
Valina ⁶	1,28	1,54	1,79
Isoleucina ⁶	1,00	1,22	1,43
Leucina ⁶	2,01	2,39	2,72
Histidina ⁶	0,64	0,77	0,89
Fenilalanina+tirosina ⁶	1,95	2,38	2,76

*Diets ajustadas ao experimento a partir de Parra et al. (2008).

¹D28 = Ração 28% PB; D34 = Ração 34% PB; D40 = Ração 40% PB.

²Níveis de garantia por quilograma do produto (MigPlus[®]): Ácido fólico: 250 mg; ácido pantotênico: 5.000 mg; antioxidante: 0,60 g; biotina: 125 mg; cobalto: 25 mg; cobre: 2.000 mg; ferro: 820 mg; iodo: 100 mg; manganês: 3.750 mg; niacina 5.000: mg; selênio: 75mg; vitamina A: 1.000.000 UI; vitamina B1: 1.250 mg; vitamina B12: 3.750 mcg; vitamina B2: 2.500 mg; vitamina B6: 2.485 mg; vitamina C: 28.000 mg; vitamina D3: 500.000 UI; vitamina E: 20.000 UI; vitamina K: 500 mg; zinco: 17.500 mg.

³Lignosulfonato de cálcio e magnésio (Melbond[®]).

⁴Análises efetuadas por NUTRON[®] Alimentos Ltda., São Paulo, Brasil.

⁵Calculada a partir de Rostagno et al. (2005).

⁶Análises efetuadas por LAMIC[®] (Laboratório de Micotoxinas) UFSM.

Para avaliar o desempenho das pós-larvas foi fornecida dieta referência para todos os tratamentos, formulada segundo Ferreira et al. (2008) (Tabela 4).

Tabela 4 – Ingredientes e composição percentual e química da dieta granulada* utilizada para pós-larvas de jundiá.

Ingredientes	Porcentual de inclusão
Levedura de cana	37
Gema de ovo cozida	20
Fígado de aves in natura (MS) ¹	30
Lecitina de soja	2
Farelo de arroz desengordurado	8
Vitaminas e minerais ²	3
Composição centesimal analisada (%) ³	
Umidade	8,03
Proteína bruta	42,90
Cinza	9,61

*Dieta de acordo com Ferreira et al. (2008).

¹Incorporado na forma *in natura*.

²Premix comercial MIG FISH[®], Rio Grande do Sul, Brasil. (níveis de garantia por quilograma do produto): Ácido fólico: 250 mg; ácido pantotênico: 5.000 mg; antioxidante: 0,60 g; biotina: 125 mg; cobalto: 25 mg; cobre: 2.000 mg; ferro: 820 mg; iodo: 100 mg; manganês: 3.750 mg; niacina 5.000: mg; selênio: 75mg; vitamina A: 1.000.000 UI; vitamina B1: 1.250 mg; vitamina B12: 3.750 mcg; vitamina B2: 2.500 mg; vitamina B6: 2.485 mg; vitamina C: 28.000 mg; vitamina D3: 500.000 UI; vitamina E: 20.000 UI; vitamina K: 500 mg; zinco: 17.500 mg

³Análises efetuadas por NUTRON[®], Alimentos Ltda, São Paulo, Brasil.

4.2.3 Animais e instalações

Foram utilizadas 66 fêmeas de jundiá *R. quelen* com 14 meses de idade e peso entre 394,2 e 690,3 g, provenientes de um só casal, criadas em viveiros de terra e adaptadas durante 90 dias em tanques-rede. As fêmeas foram distribuídas ao acaso, em seis tanques-rede com capacidade útil individual de 1 m³, na proporção de oito por tanque, neste momento 18 fêmeas foram abatidas para coleta de sangue e ovários. Os tanques-rede foram fixados em um reservatório de terra escavado, com aproximadamente 2000 m² e com profundidade média de 3,5±0,4 metros no local onde os mesmos foram fixados. Em cada tanque-rede foi colocado um comedouro submerso tipo tubular, fixado ao centro e distanciado em 20 cm da base. Também, 24 machos de jundiá, foram mantidos em dois tanques-rede suspensos em um reservatório escavado de terra com aproximadamente 1000 m² e destes, 12 machos foram selecionados para fecundação das fêmeas. Estes tanques-rede, com capacidade de 1 m³, eram providos de tela lateral com 20 cm submerso e 20 cm acima do nível da água, para evitar a perda da ração flutuante. Os dois reservatórios de terra foram drenados e desinfectados previamente eliminando peixes indesejáveis e no início do experimento foram colocados peixes onívoros (carpa húngara e pacu) para consumir eventuais invertebrados que pudessem servir de alimento aos jundiás utilizados neste estudo.

Para a realização das desovas, os casais foram induzidos com extrato hipofisário de carpa e transferidos individualmente para incubadoras tipo Zoug com capacidade de 56 L de água, acopladas a um sistema de recirculação d'água com temperatura regulada e sistema de aeração tipo "Venturi" (Radünz Neto et al., 1987). No anel de contenção de ovos e larvas de cada incubadora, foi fixada uma rede permitindo que o casal permanecesse na parte superior da mesma para flutuação dos ovos em todo o espaço disponível. Imediatamente abaixo da rede foi colocado um funil acoplado a uma mangueira transparente que desembocava em uma calha provida de recipientes individuais que permitiram a visualização dos primeiros ovos para determinação do exato momento da desova. Após a fertilização os casais foram retirados das incubadoras para realizar-se a incubação dos ovos.

4.2.4 Manejo alimentar dos reprodutores e pós-larvas

As fêmeas foram alimentadas durante 90 dias conforme Fernández Palácios et al. (1997), diariamente, às 9 e às 16 horas. A ração foi pesada e ministrada de acordo com a biomassa de cada tanque-rede obtida no início e aos 45 dias, variando de 2 % a 3%, até o final do experimento. Os machos foram alimentados diariamente, no mesmo horário das fêmeas, entre 2 % a 3% da biomassa, com ração comercial extrusada marca SUPRA[®] Alisul Alimentos Ltda, com níveis de garantia de no mínimo 32 % de proteína bruta e 8 % de extrato etéreo. As pós-larvas foram alimentadas *ad libitum* a cada duas horas, das oito às 18 horas, até 14 dias durante a transição entre a absorção do saco vitelínico para a alimentação juvenil de acordo com Sink & Lochmann (2008). As sobras de rações e dejetos dos peixes foram retiradas diariamente antes da primeira alimentação.

4.2.5 Biometrias e coletas de vísceras, gônadas e sangue

Foram realizadas três biometrias, no início do experimento (dia zero), aos 45 e aos 90 dias, com a última alimentação fornecida 24 horas antes das coletas, para avaliação de peso médio final (PMF, g), comprimento total (CT, cm) e fator de condição [FC = (peso x 100) / (comprimento total³)] (Steffens, 1987). Em cada biometria, seis fêmeas por tratamento, foram abatidas e evisceradas para obtenção de valores de pesos de fígado, gônadas (g), índices hepatossomático, gonadossomático e de gordura visceral, em porcentagem do peso inteiro. Também foram coletados os ovários para análise de aminoácidos e sangue para análises plasmáticas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), proteína plasmática total (PPT), testosterona (T), estradiol (E₂), aminoácidos livres (AAL) e triglicerídeos (TG).

4.2.6 Perfil de testosterona e estradiol

Amostra de 2 mL de sangue de três peixes de cada tratamento, foram coletados no início (dia zero), aos 45 e 90 dias. O sangue foi obtido da veia caudal usando seringa heparinizada, armazenado em tubo de ensaio e em seguida centrifugado (3000 rpm por 10 minutos). Foi separado o plasma e armazenado em freezer a -20 °C para posterior análise simultânea das três coletas. Ao final do experimento os esteróides foram extraídos das amostras de plasma através de teste enzimelinked immunosorbent assay (ELISA) e kits (Oxford Biomedical). Em cada amostra de plasma foi adicionado 1 mL de éter etílico e então incubadas com 50 µL de E₂ ou T com conjugado enzimático de anticorpos e placas revestidas, por 1 hora em temperatura ambiente. O conjugado enzima ligada foi detectado pela adição de 150 µL de substrato (tetramethylbenzidine 3,3', 5,5'), que ligado ao conjugado enzima gerou cor após 30 minutos. A intensidade do desenvolvimento da cor foi inversamente proporcional à quantidade de E₂ ou T na amostra. Absorbâncias da amostra foram lidas de acordo com as normas, tanto a 650 nm e 490 nm, com um leitor de microplacas modelo 550 (Bio-Rad, Hercules, CA) (Barcellos et al., 2001).

4.2.7 Determinação da proteína total, aminoácidos livres e triglicerídeos

Os níveis plasmáticos de proteína total e triglicerídeos foram determinados utilizando sistema colorimétrico seguindo-se os protocolos descritos nos kits Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratório Ltda., Goiânia, Goiás, Brasil. Para a quantificação de aminoácidos livres, o plasma foi diluído em dez vezes em tampão fosfato de potássio (TFK) 20 nM, pH 7,5 e após centrifugado a 1000 g por dez minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante neutro (0,25 mL) foi usado para quantificação colorimétrica de acordo com Spies (1957), utilizando ninidrina 1,5 % em álcool isopropílico como reagente de cor.

4.2.8 Aminoácidos totais dos ovários

Após o abate das fêmeas, os ovários foram coletados, pesados e colocados em estufa com circulação de ar forçado durante 12 horas a 104 °C para extração da matéria seca e posterior análise. A determinação dos teores de aminoácidos foi realizada no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) da UFSM, Santa Maria, RS, Brasil, por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras foram submetidas à hidrólise prévia com ácido clorídrico (HCl) bidestilado 6N, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres com fenilisotiocianato (PITC) e a separação dos derivados feniltiocarbamilaminoácidos (PITC-aa), em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag – 3,9x300 mm), com detecção por UV a 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na altura de cada pico de aminoácido, tendo-se usado como referência a altura do pico do padrão interno de aminoácidos com concentração conhecida, com o padrão derivado nas mesmas condições e no mesmo tempo das amostras.

4.2.9 Avaliação histológica das gônadas (ovários)

Para avaliação histológica das gônadas, foram coletadas amostras da porção intermediária através de corte transversal dos ovários, com aproximadamente dois centímetros de comprimento e fixadas em formol tamponado. Para a preparação das lâminas em duplicata, utilizou-se a técnica recomendada por Tolosa et al. (2003), com os seguintes procedimentos:

- 1ª etapa: Coleta dos ovários e fixação em formol tamponado a 10 %;
- 2ª etapa: Desidratação em série alcoólica crescente iniciando a partir do álcool 80 % até álcool etílico PA;
- 3ª etapa: Clarificação ou diafanização (durante 40 minutos para desidratação total do tecido);

- 4ª etapa: Impregnação com dois banhos de parafina líquida pelo período de 30 minutos cada, com parafina purificada com ponto de fusão entre 56 °C e 58 °C em estufa a 60 °C;
- 5ª etapa: Inclusão (inclusão dos tecidos em moldes previamente posicionados para posição de corte em parafina sob o ponto de fusão 56 °C e 58 °C);
- 6ª etapa: Corte histológico em micrótomo rotativo com espessura entre 5 e 6 micras;
- 7ª etapa: coloração com hematoxilina-eosina(H-E) ou azul de toluidina;
- 8ª etapa: seleção e classificação do material para fotografia e análises.

A avaliação microscópica do desenvolvimento ovocitário foi realizada de acordo com a classificação proposta por Ganeco et al. (2001) e Ghirdelli et al. (2007) em estágio I: imaturo; estágio II: maturação inicial; estágio III: maturação intermediária; estágio IV: maduro e estágio V: regressão. As lâminas foram fotografadas e analisadas em microscópio biológico marca Bell, modelo Top Light B2 (Itália), em aumento de 40x.

4.2.10 Indução hormonal, desova e coletas de ovos e larvas

Para a realização das desovas, duas fêmeas por tanque-rede (quatro por tratamento) foram induzidas com extrato hipofisário de carpa (EHC, cinco mg kg⁻¹ de peso vivo), além de 12 machos tratados com três mg kg⁻¹ de peso vivo de EHC (Legendre et al., 1996; Baldisserotto & Radünz Neto, 2005). Depois das desovas, os casais foram retirados das incubadoras, permanecendo apenas os ovos. Para estimar a taxa de fecundação, na hora zero, foi estabelecido o tempo de três horas após o início da desova de cada fêmea, em seguida foi coletado, drenado e medido em proveta o volume total dos ovos de cada incubadora (Silva, 2004). Foram retiradas três amostras de 1 mL para contagem de ovos viáveis e mortos, para cálculo da taxa de fecundidade conforme Silva (2004). Para avaliação dos caracteres morfométricos dos ovos, foram coletadas amostras com 10 ovos de cada incubadora, onde foi pesado, medido o diâmetro do ovo (DO), área do ovo (AO), à zero hora (=3 horas), seis, 12, 18 e 24 horas após a desova, em seguida os ovos foram fixados em formol neutro (4%) para posterior

análise através de microscópio Motic® AE21, com câmara fotográfica Moticom® e um analisador de imagens acoplado ao programa Motic Images Plus 2,0 ML, com aumento de 40x. Amostras de 10 larvas foram coletadas de cada incubadora no momento da eclosão, às 12, 24, 36 e 48 horas, onde foram medidos o comprimento total, o diâmetro do saco vitelínico (DSV) e a área do saco vitelínico (ASV), através de estereomicroscópio Motic® SMZ 168, com câmara fotográfica Moticom® e um analisador de imagens acoplado ao programa Motic Images plus 2,0 ML. Após a absorção do saco vitelínico (aproximadamente 48 horas depois da eclosão), três amostras de 160 pós-larvas foram coletadas de cada incubadora e distribuídas em dois sistemas de criação de pós-larvas, dotados de biofiltro e temperatura controlada de acordo com Parra et al. (2008). Os ovos e larvas foram pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g (Shimadzu, Kyoto, Japan), em seguida fixados em formol neutro a 4 % (Eiras et al., 2000), para posterior biometria com auxílio de estereomicroscópio e papel milimetrado.

4.2.11 Biometrias e parâmetros zootécnicos das pós-larvas

Para biometria inicial foram coletadas dez larvas do mesmo lote. Aos sete dias de criação uma amostra de dez larvas de cada repetição foi retirada para biometria. Aos 14 dias, dez larvas de cada unidade experimental, foram medidas e todas as larvas sobreviventes foram contadas e pesadas. Os parâmetros zootécnicos avaliados foram: peso médio (g); comprimento total (cm); taxa de crescimento específico segundo Legendre et al. (1996), $\left(\frac{\log_n(\text{peso final}) - \log_n(\text{peso inicial})}{\text{período experimental}}\right)$; fator de condição conforme Jobling et al. (1995), $(\text{peso} \times 100) / (\text{comprimento total})^3$, sobrevivência (%) e produto peso x sobrevivência (PxS).

4.2.12 Qualidade da água do reservatório, sistemas de incubação e larvicultura

A água do reservatório onde foram colocados os tanques-rede foi monitorada semanalmente verificando-se os níveis de oxigênio, pH, amônia, nitrito, alcalinidade, dureza, condutividade elétrica, transparência e diariamente a temperatura. No sistema de incubação e na larvicultura foram realizadas as mesmas análises diariamente com exceção da transparência.

Para a realização das análises de pH, foi utilizado um pHmetro DM20 (Digimed, São Paulo, SP, Brasil), o oxigênio dissolvido foi medido com um oxímetro Orion 810 (Jundilab, Jundiaí, SP, Brasil), para a condutividade elétrica foi utilizado um condutivímetro (WTW 315i/SET, Weilheim, Germany) e a transparência foi medida com disco de Secchi. As demais análises foram realizadas através de kit analítico Alfa Tecnoquímica (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil).

Foram aferidos também os parâmetros físicos e químicos da água dos sistemas de incubação e larvicultura, diariamente, utilizando-se os mesmos aparelhos citados para aferição da água do reservatório, excetuando-se a transparência e condutividade elétrica.

No reservatório de terra os parâmetros determinados foram: pH: $7,4 \pm 0,35$ às 9:00 e $7,63 \pm 0,41$ às 16:00; temperatura: $17,82 \pm 2,3$ °C às 9:00 e $20,3 \pm 2,75$ °C às 16:00; alcalinidade: $38,35 \pm 8,09$ mg L⁻¹ de CaCO₃; dureza: $33,6 \pm 6,85$ mg L⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido: $8,46 \pm 0,46$ mg L⁻¹ às 9:00 e $8,81 \pm 0,39$ mg L⁻¹ às 16:00; amônia e nitrito: não foram detectados; condutividade elétrica: $53,15 \pm 11,78$ μS cm⁻¹; e transparência: maior que 150 cm.

Nos sistemas de incubação e larvicultura os parâmetros foram aferidos diariamente às 09:00 16:00 e situaram-se em $7,18 \pm 0,21$ para pH; temperatura: $23 \pm 0,3$ °C; alcalinidade: $41,05 \pm 0,8$ mg L⁻¹ de CaCO₃; dureza: $28,6 \pm 0,1$ mg L⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido: $6,58 \pm 1,03$ mg L⁻¹; amônia (NH₄): $0,2 \pm 0,1$ mg L⁻¹; nitrito (NO₂): $0,03 \pm 0,01$ mg L⁻¹ e $7,18 \pm 0,21$ mg L⁻¹ para pH; temperatura: $24,7 \pm 1,1$ °C; alcalinidade: $47,7 \pm 0,4$ mg L⁻¹ de CaCO₃; dureza: $32,0 \pm 0,3$ mg L⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido:

8,17±0,2 mg L⁻¹; amônia (NH₄): 0,22±0,03 mg L⁻¹ e nitrito (NO₂): 0,05±0,01 mg L⁻¹, respectivamente.

4.2.13 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições para as fêmeas induzidas hormonalmente e três repetições para as demais fêmeas. As larvas foram distribuídas em três tratamentos e três repetições de acordo com as dietas maternas. Os dados obtidos foram submetidos à teste normalidade de Shapiro-Wilk. Quando apresentaram distribuição normal, foram submetidos à análise de variância e teste de Duncan, e quando não normais, foram analisados pela análise de variância de Wilcoxon e o efeito do nível protéico avaliado por regressão linear. Foram realizadas também estudos de correlação de Pearson (r) entre as variáveis estudadas. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico "SAS" (2001), com nível de 5 % de significância (P<0,05).

4.3 Resultados

4.3.1 Desempenho zootécnico e reprodutivo das fêmeas

Este estudo demonstrou que o aumento do nível de proteína nas dietas, não influenciou no desempenho zootécnico em peso, comprimento total, fator de condição, índices gonadossomático e hepatossomático e de gordura visceral das fêmeas de jundiá (P>0,05) (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de peso, comprimento total, fator de condição e índices gonadossomático, hepatossomático e de gordura visceral das fêmeas de jundiá, alimentadas com diferentes níveis de proteína.

Variáveis	Níveis de proteína bruta (%)		
	28	34	40
	inicial		
Peso (g)	411,1±26	394,2±23	380±20,7
Comprimento total (cm)	32,8±0,61	32,7±0,60	32,6±0,42
Fator de condição	1,15±0,03	1,11±0,02	1,08±0,03
Índice gonadossomático (%) ¹	3,81±1,02	3,81±1,00	3,81±1,01
Índice hepatossomático (%) ¹	1,30±0,13	1,30±0,13	1,30±0,13
Índice de gordura visceral (%) ¹	1,97±0,42	1,97±0,42	1,97±0,42
	45 dias		
Peso (g)	428±24,70	454,4±25,41	432,0±25,40
Comprimento total (cm)	33,4±0,60	32,9±0,50	33,3±0,40
Fator de condição	1,14±0,04	1,25±0,04	1,15±0,04
Índice gonadossomático (%)	6,33±0,58	11,14±1,15	8,40±2,30
Índice hepatossomático (%)	1,59±0,04	1,28±0,16	1,49±0,19
Índice de gordura visceral (%)	1,49±0,07	1,49±0,53	2,04±0,65
	90 dias		
Peso (g)	475,0±33,70	537,9±41,82	502,0±35,50
Comprimento total (cm)	34,5±0,71	35,0±0,81	34,0±0,60
Fator de condição	1,14±0,04	1,23±0,02	1,26±0,05
Índice gonadossomático (%)	12,43±2,01	13,91±2,44	8,78±4,14
Índice hepatossomático (%)	1,27±0,13	1,18±0,10	1,16±0,07
Índice de gordura visceral (%)	1,14±0,64	1,03±0,48	2,16±1,22

Valores expressos em média ± erro padrão.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($P>0,05$).

¹Valores obtidos a partir de abate inicial de 18 fêmeas de jundiá do mesmo lote daquelas utilizadas no experimento.

4.3.2 Concentração plasmática de esteróides sexuais

Os níveis de testosterona plasmática (T) não se mostraram diferentes entre os tratamentos, decorrentes dos percentuais de proteína bruta nas dietas ($P>0,05$), no entanto houve diferença nesses níveis entre os diferentes períodos analisados, sendo nítida a progressão dos valores (15,09 ng mL⁻¹) na fase inicial, aumentando até os 45

dias experimentais (55,69; 49,80 e 54,57 ng mL⁻¹) e posteriormente, decrescendo até o final do período alimentar (23,44; 20,94 e 23,42) respectivamente (P<0,05) (Figura 1).

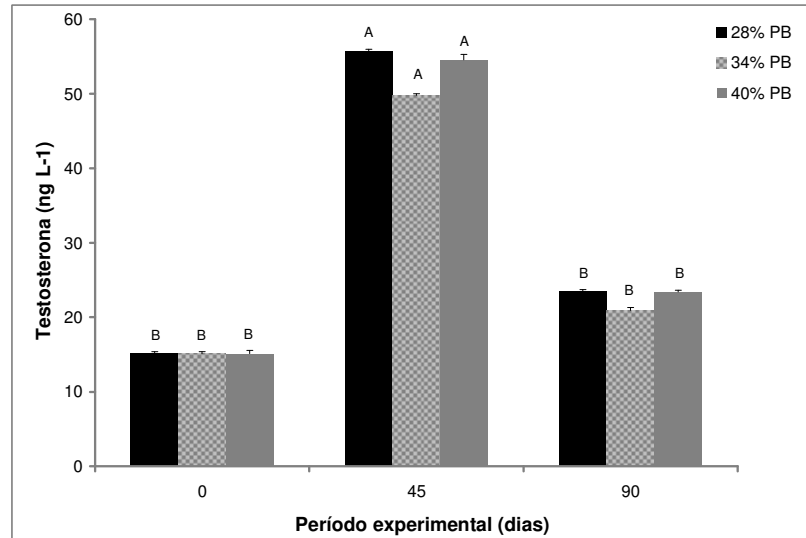


Figura 1 - Testosterona plasmática (T), em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan (P>0,05). Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os períodos experimentais pelo teste de Duncan (P<0,05).

A concentração plasmática de 17 β -estradiol não mostrou diferença entre os tratamentos (P>0,05). Porém, foram similares entre as fêmeas de todos os tratamentos, verificando-se um aumento progressivo destes níveis ao longo do período experimental que variaram de 0,90 ng L⁻¹ iniciais, entre 3,72 e 4,13 ng L⁻¹ indicando uma vitelogênese intermediária aos 45 dias e 8,53 e 9,48 ng L⁻¹ estabelecendo uma vitelogênese plena aos 90 dias (P<0,05) (Figura 2).

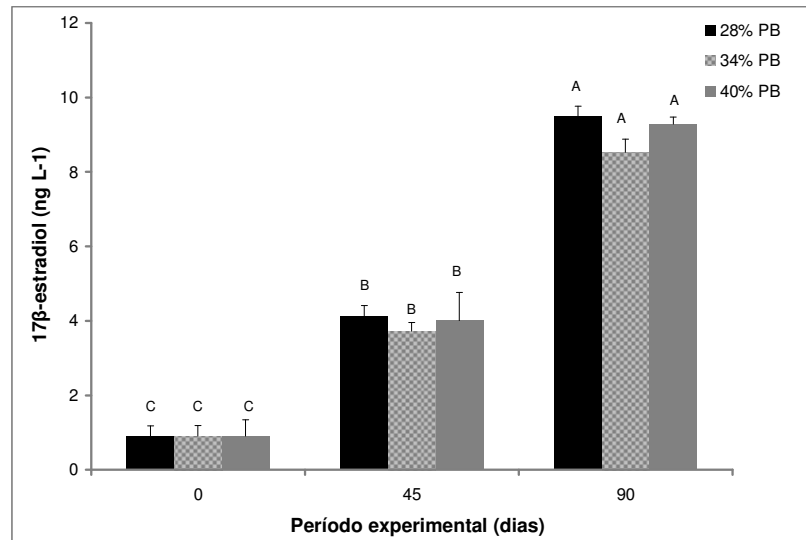


Figura 2 - 17β -estradiol plasmático (E_2), em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan ($P>0,05$). Letras maiúsculas na coluna, indicam diferença significativa entre os períodos experimentais pelo teste de Duncan ($P<0,05$).

Para a atividade de alanina aminotransferase (ALT), que podem ser observadas na Figura 3, não houve diferença significativa entre os níveis de proteína na dieta (19,72 no dia zero, 15,07; 18,67 e 21,80 aos 45 dias; e 14,17; 15,51 e 14,50 UI L⁻¹ aos 90 dias) e também nos períodos analisados (19,72 iniciais, 15,07 e 14,17; 18,67 UI L⁻¹ e 15,51 aos 45 dias e 21,80 e 14,50 UI L⁻¹ aos 90 dias).

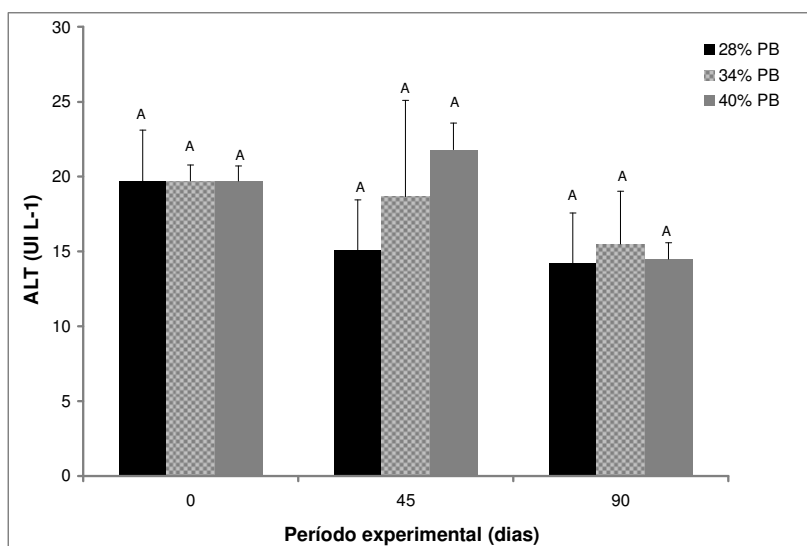


Figura 3 – Atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT) sérica em resposta aos níveis protéicos nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ou no período experimental.

A enzima aspartato aminotransferase apresentou valores alterados para os níveis protéicos de 28 % (139,97 UI L⁻¹) em relação ao nível 40 % (111,79 UI L⁻¹), sendo menor ao final do período alimentar ($P < 0,05$), para os demais valores não houve diferença significativa entre os tratamentos e período temporal ($P > 0,05$) (Figura 4).

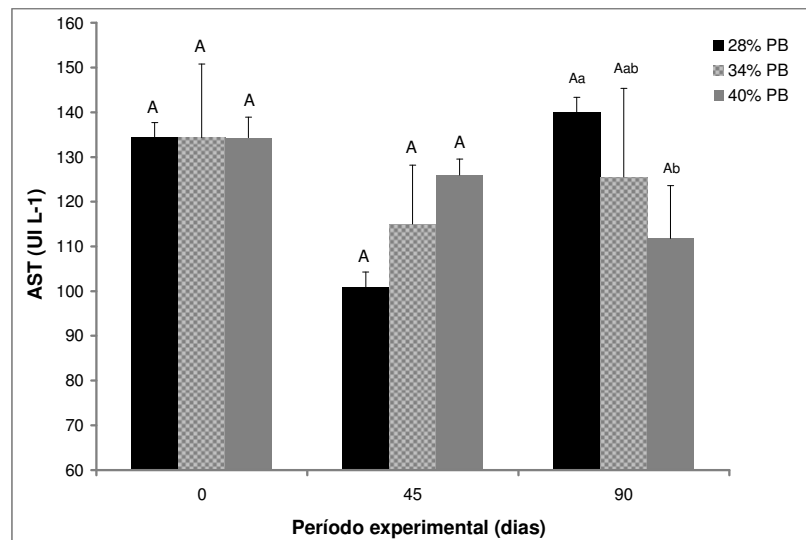


Figura 4 - Enzima aspartato aminotransferase (AST) em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($P > 0,05$); Letras minúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os períodos experimentais pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Os resultados da proteína plasmática total (PPT) entre os tratamentos, mostraram diferença significativa somente aos 45 dias de alimentação para o nível de 40 % de proteína na dieta ($P < 0,05$). Também, no efeito período, houve um padrão progressivo (4,24 inicial para 5,97; 6,10 e 6,67 IU L⁻¹ aos 90 dias, respectivamente) ($P < 0,05$) (Figura 5).

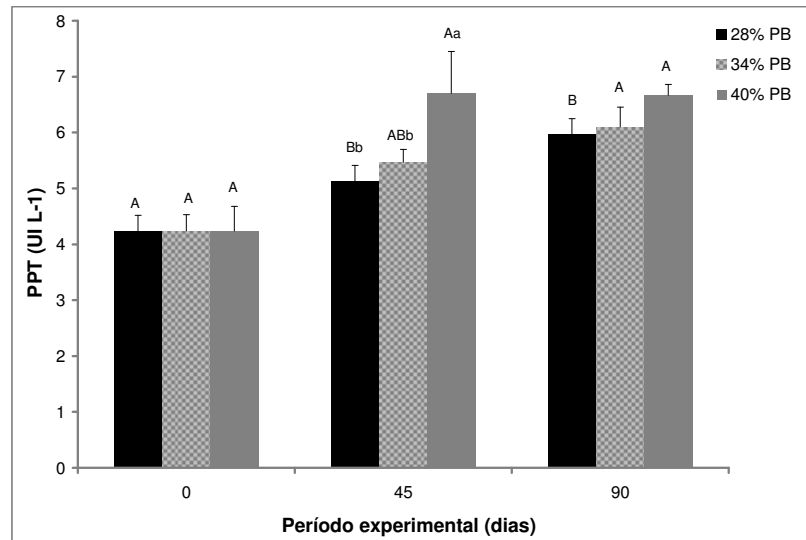


Figura 5 - Proteína plasmática total (PPT) em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); Letras minúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os períodos experimentais experimental pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Na Figura 6, pode-se observar que na fase final (90 dias), houve elevação plasmática de triglicerídeos circulantes, entre os tratamentos: 338,99; 263,37 e 535,73 mg dL^{-1} , respectivamente ($P > 0,05$). Na fase intermediária do período alimentar, houve aumento considerável aos 45 dias da taxa de triglicerídeos diferindo significativamente dos períodos inicial (dia zero) e 90 dias ($P < 0,05$).

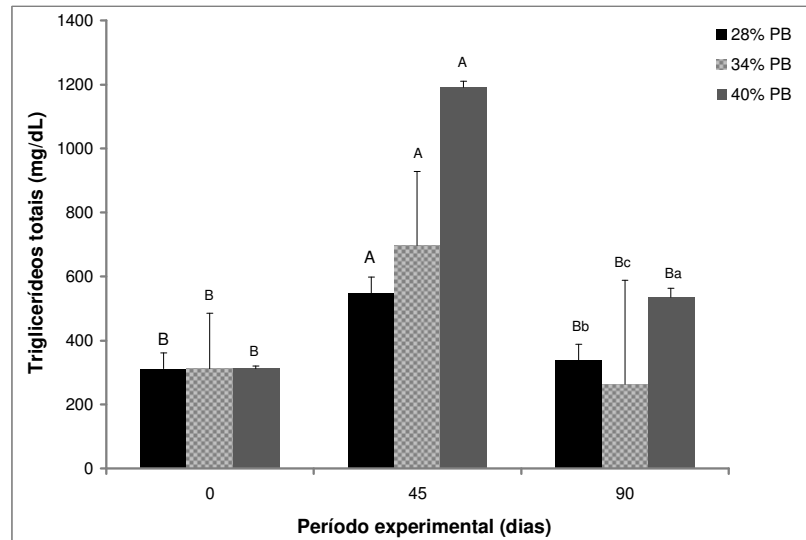


Figura 6 - Triglicerídeos plasmáticos (mg dL^{-1}), em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna, indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); Letras minúsculas na coluna, indicam diferença significativa entre os períodos experimentais entre os períodos experimentais pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Os aminoácidos livres no plasma aumentaram a medida que se elevou o nível de proteína na dieta principalmente ao final (90 dias) ($P < 0,05$). No período experimental as dietas com níveis de 28 e 34 % de proteína não diferiram entre si, no entanto o maior valor encontrado foi com o nível de 40 % de proteína (Fig 7).

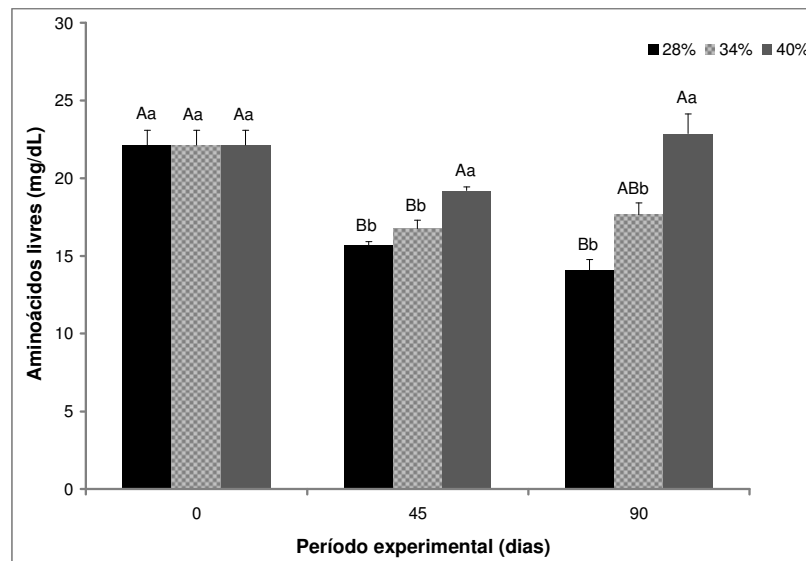


Figura 7 - Aminoácidos livres (mg dL⁻¹), em resposta aos níveis de proteína nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna, indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan (P<0,05); Letras minúsculas na coluna, indicam diferença significativa entre os períodos experimentais pelo teste de Duncan (P<0,05).

Os resultados de aminoácidos totais dos ovários estão apresentados na Figura 8. Não houve efeito dos níveis de proteína utilizados nas dietas (P>0,05). O incremento de aminoácidos totais foi significativo nos períodos entre 45 dias ao final do estágio de maturação gonadal (90 dias) de acordo com a equação: $Y=72,95025+ 0,11140x$ $r^2=0,6649$.

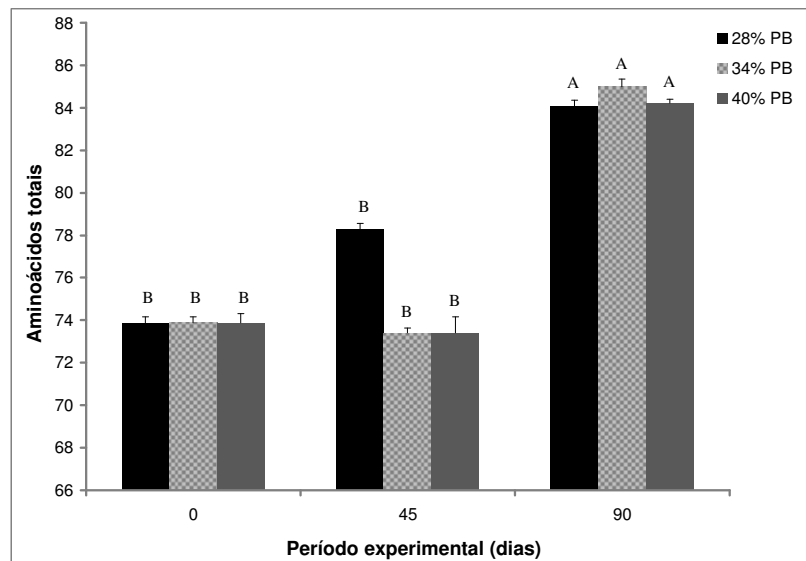


Figura 8 - Aminoácidos totais dos ovários de matrizes de jundiá, coletados no início (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan ($P > 0,05$). Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

4.3.3 Avaliação histológica das gônadas (ovários)

As Figuras 9A, 9B, 9C e 9D correspondem às coletas de ovários realizadas no início do experimento (dia zero), as Figuras 10A, 10B, 10C e 10D correspondem às coletas realizadas no período intermediário (45 dias) e as Figuras 11A, 11B, 11C, 11D e 12 correspondem às coletas realizadas no período final (90 dias). Através das setas indicadoras, podem ser visualizados os estádios das células ovocitárias coletadas nos respectivos períodos experimentais. Nas Figuras 9A, 10A e 11A, podem ser observados ovócitos jovens ou cromatino-nucleares no estágio I, constituindo-se nas menores células encontradas, com núcleo grande central, citoplasma basófilo com nucléolos periféricos e zona pelúcida não evidente. Nas Figuras 9B, 10B e 11B encontram-se ovócitos no estágio II, perinucleolares ou pré-vitelogênicos com citoplasma basófilo, finamente granular, presença de núcleo vitelínico com vários nucléolos periféricos e células foliculares pavimentosas e zona pelúcida delgada. Nas Figuras 9C, 10C e 11C

podem ser observados ovócitos no estágio III, com alvéolos-corticais e núcleo central levemente basófilo com contorno irregular, citoplasma acidófilo na periferia com aparecimento de vesículas claras (alvéolo-cortical). As células foliculares tornam-se cúbicas e a zona pelúcida permanece delgada. Nas Figuras 9D, 10D e 11D observam-se ovócitos vitelogênicos no estágio IV, com a presença de envoltório folicular e delgada camada de alvéolos corticais. Núcleo menor que os anteriores com nucléolos aleatórios. Possuem grânulos de vitelo em forma esférica de tamanhos variados. Na Figura 12, aparece um ovócito atrésico no estágio V, que perdeu sua forma arredondada típica e apresenta zona radiata fragmentada e grânulos de vitelo desorganizado.

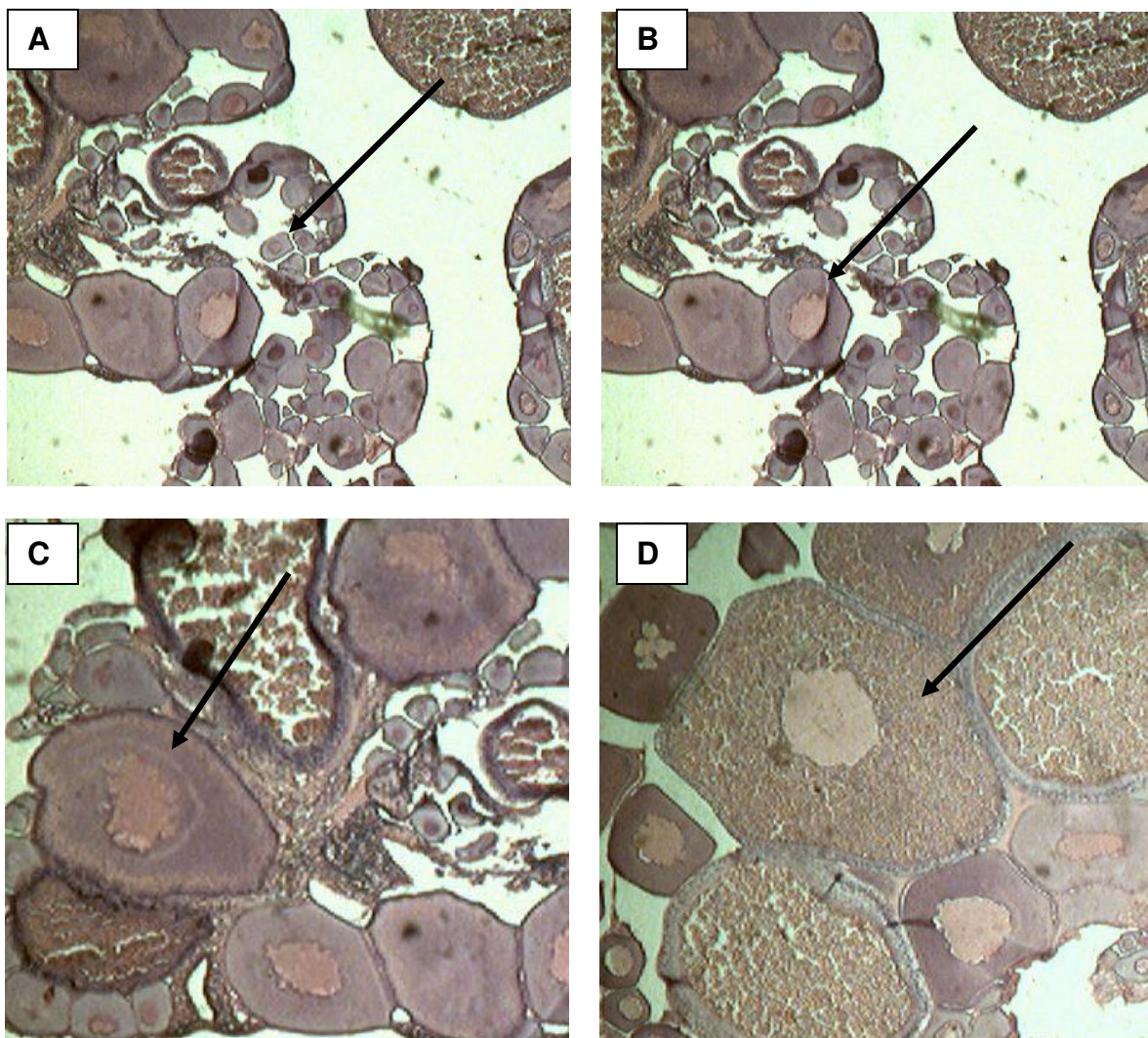


Figura 9 - Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas) no dia zero, no experimento I: A) Ovócito cromatino-nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Hematoxilina-Eosina; aumento 40x:

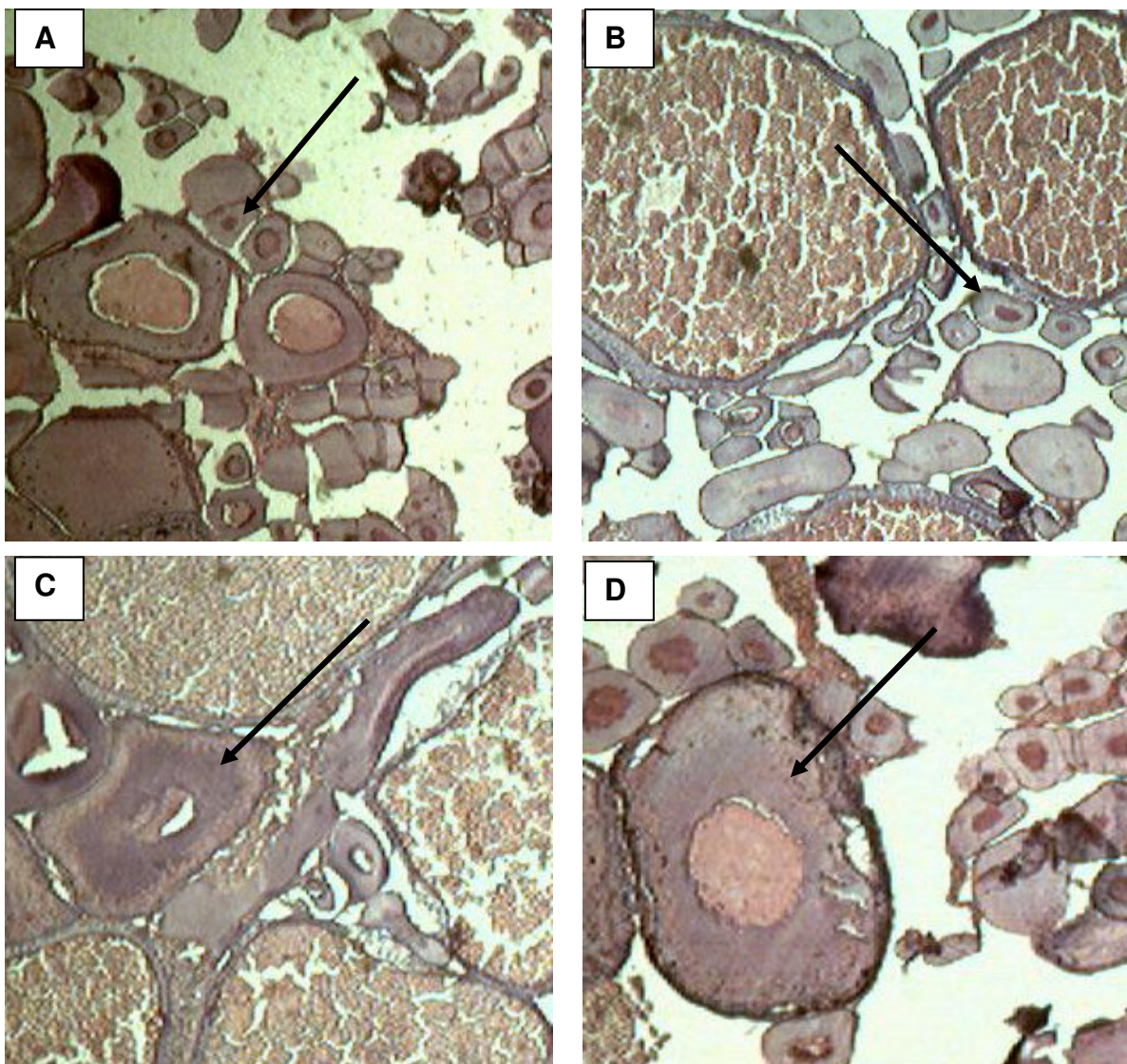


Figura 10 - Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas) coletados aos 45 dias no experimento I: A) Ovócito cromatino nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Hematoxilina-Eosina; aumento 40x.

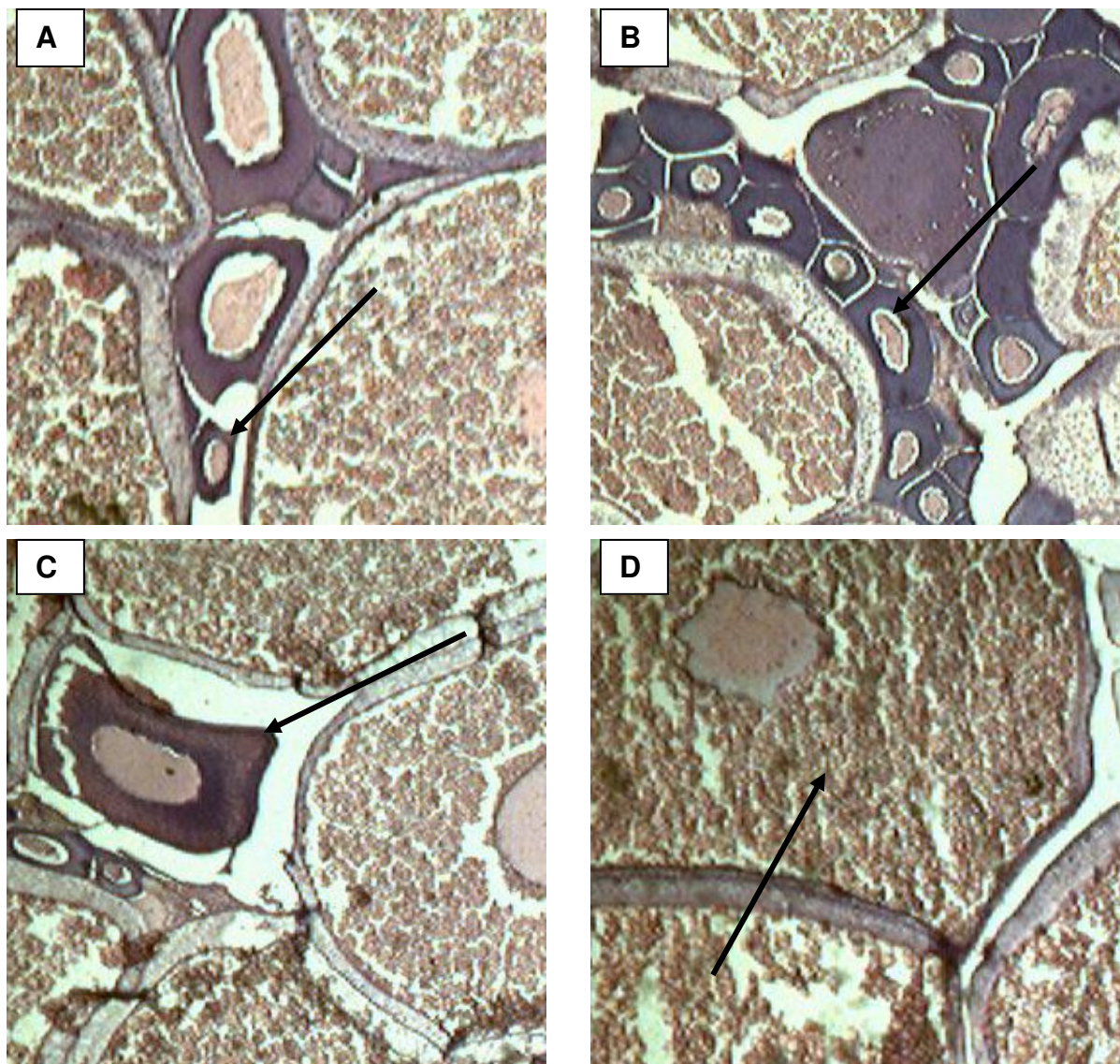


Figura 11 - Cortes de ovários de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas), no experimento I (90 dias): A) Ovócito cromatino-nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Hematoxilina-Eosina; aumento 40x.

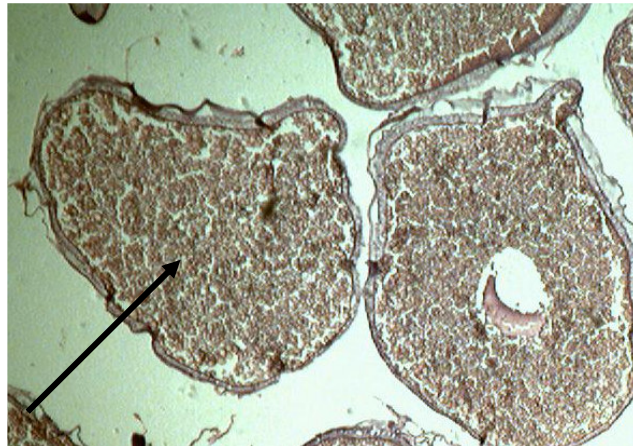


Figura 12 - Corte de ovário de jundiá, no estágio V (atrésico) (seta), ao final do experimento I (90 dias); Coloração: Hematoxilina-Eosina; aumento 40x.

No início do experimento (dia zero), ovários de cinco fêmeas foram analisados e encontrados ovócitos nos estádios I, II e III em todas as fêmeas e em apenas uma foi encontrado alguns ovócitos no estágio IV. Aos 45 dias foram coletados ovócitos de três fêmeas por tratamento e houve predomínio dos estádios I, II e III, apenas os tratamentos com os níveis de 28 e 34 % de PB apresentaram alguns ovócitos no estágio IV. Ao final do experimento (90 dias) das seis fêmeas analisadas (duas por tratamento), foram encontrados ovócitos em todos os estádios nos três tratamentos. No tratamento com o nível de 34 % de PB foi encontrado apenas um ovócito no estágio V (atrésico), nas lâminas analisadas (Anexo1).

4.3.4 Desempenho reprodutivo das fêmeas

Todas as fêmeas (quatro) alimentadas com o nível de 28 % desovaram, enquanto que para as dietas contendo 34 % e 40 % PB, três desovaram em cada tratamento.

Para a taxa de fecundidade, peso do ovo (mg), número de ovos por kg de fêmea e número de ovos hidratados por mL de desova, não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6 – Taxa de fecundidade, peso do ovo, número de ovos kg de fêmea e número de ovos hidratados por mL de desova de fêmeas de jundiá, resposta aos níveis protéicos.

Variáveis	Níveis de proteína bruta (%)		
	28	34	40
Taxa de fecundidade (%) ¹	92,37±1,58	82,42±7,97	84,96±8,30
Peso do ovo (mg) ²	9,53±1,43	8,12±0,58	7,64±0,37
Número de ovos kg ⁻¹ de fêmea	96.528±34.688	106.360±40.082	128.050±32.375
Número de ovos mL ⁻¹ de desova	127±17,60	140±11,10	143±8,0

Valores expressos em média ± erro padrão.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($P>0,05$).

¹Média de cinco coletas realizadas à zero hora (=3 horas), seis, 12, 18 e 24 horas após a desova.

²Média das coletas realizadas à zero hora (=3 horas), após a desova.

Na Tabela 7, pode-se observar que os resultados obtidos com os diferentes níveis de proteína nas dietas não mostraram diferença significativa em comprimento da larva (mm), diâmetro do saco vitelínico (mm) e área do saco vitelínico (mm²) ($P>0,05$), exceto nas medidas morfométricas área e diâmetro do ovo onde houve diferença significativa entre os tratamentos testados na hora 12 ($P<0,05$). Entretanto, de modo geral, com o aumento do nível de proteína na dieta houve uma tendência numérica a ocorrer diminuição linear nos períodos avaliados.

Tabela 7 – Medidas morfométricas de ovos e larvas obtidos de fêmeas de jundiá, alimentadas com três níveis de proteína nas dietas.

Períodos	Níveis de proteína bruta (%)		
	28	34	40
Área do ovo (mm ²)			
Hora 0	1,60±0,06	1,57±0,04	1,53±0,03
Hora 6	1,52±0,05	1,52±0,05	1,51±0,05
Hora 12	1,79±0,05 ^a	1,78±0,05 ^a	1,58±0,02 ^b
Hora 18	2,06±0,16	1,95±0,05	1,76±0,06
Hora 24	1,95±0,09	1,90±0,07	1,89±0,04
Diâmetro do ovo (mm)			
Hora 0	1,44±0,02	1,41±0,02	1,39±0,01
Hora 6	1,39±0,02	1,38±0,02	1,38±0,03
Hora 12	1,52±0,02 ^a	1,52±0,01 ^a	1,43±0,01 ^b
Hora 18	1,54±0,04	1,54±0,03	1,51±0,02
Hora 24	1,64±0,04	1,66±0,03	1,59±0,01
Comprimento da larva (mm)			
Hora 0	3,95±0,05	3,74±0,15	3,69±0,09
Hora 12	4,13±0,02	4,29±0,04	4,30±0,04
Hora 24	4,68±0,14	4,60±0,12	4,69±0,06
Hora 36	5,19±0,16	5,12±0,13	5,18±0,09
Hora 48	5,29±0,04	5,30±0,06	5,30±0,07
Diâmetro do saco vitelínico (mm)			
Hora 0	1,06±0,02	1,06±0,01	1,09±0,02
Hora 12	1,07±0,04	1,04±0,03	1,00±0,02
Hora 24	0,99±0,05	0,98±0,02	1,02±0,03
Hora 36	0,94±0,32	0,95±0,02	0,92±0,04
Hora 48	0,88±0,01	0,87±0,03	0,81±0,04
Área do saco vitelínico (mm ²)			
Hora 0	0,86±0,03	0,87±0,01	0,90±0,02
Hora 12	0,88±0,06	0,84±0,05	0,78±0,03
Hora 24	0,75±0,06	0,77±0,03	0,80±0,04
Hora 36	0,66±0,06	0,66±0,03	0,61±0,05
Hora 48	0,53±0,01	0,52±0,05	0,51±0,06

Valores expressos em média ± erro padrão.

Médias com letras diferentes na linha apresentam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

Com relação ao desempenho zootécnico das pós-larvas houve aumento significativo nas variáveis peso médio (PM), comprimento total (CT) e peso versus sobrevivência (PxS) em resposta aos níveis de proteína das dietas. Aos sete dias, os resultados obtidos com a dieta 28 % de proteína foi superior à dieta contendo 34 % e

similar ao tratamento com 40 % de proteína. No entanto aos 14 dias para estas variáveis, nos diferentes tratamentos, o aumento foi evidenciado para o nível de 28 % de PB em relação aos níveis 34 % e 40 % de proteína respectivamente (Tabela 8).

Tabela 8 – Desempenho zootécnico das pós-larvas de jundiá, provenientes de matrizes alimentadas com três níveis de proteína nas dietas.

Variáveis	Níveis de proteína bruta (%) ¹		
	28	34	40
	Inicial		
Peso médio (mg)	1,72±0,01 ^a	1,54±0,03 ^b	1,71±0,02 ^a
Comprimento total (mm)	5,65±0,0 ^a	5,68±0,13 ^a	5,83±0,17 ^a
Fator de condição	0,95±0,01 ^a	0,85±0,06 ^a	0,87±0,07 ^a
	7 dias		
Peso médio (mg)	4,47±0,32 ^a	3,35±0,09 ^b	3,88±0,31 ^{ab}
Comprimento total (mm)	8,44±0,18 ^a	7,89±0,10 ^b	8,23±0,19 ^{ab}
Taxa de crescim. específico (%/dia)	13,39±0,99 ^a	10,91±0,90 ^a	11,31±1,22 ^a
Fator de condição	0,74±0,05 ^a	0,68±0,03 ^a	0,69±0,04 ^a
	14 dias		
Peso médio (mg)	11,76±1,08 ^a	7,90±0,67 ^b	6,78±0,47 ^b
Comprimento total (mm)	11,03±0,35 ^a	9,90±0,15 ^b	9,73±0,21 ^b
Taxa de crescim. específico (%/dia)	13,45±0,71 ^a	11,45±0,66 ^{ab}	9,70±0,51 ^b
Fator de condição	0,86±0,03 ^a	0,80±0,04 ^a	0,73±0,03 ^a
Sobrevivência (%)	82,46±4,78 ^a	78,62±1,07 ^a	73,10±1,76 ^a
Peso versus sobrevivência	992,67±130,6 ^a	622,42±53,7 ^b	497,23±38,9 ^b

Valores expressos em média ± erro padrão.

Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan (P<0,05).

¹Níveis de proteína bruta na dieta das fêmeas reprodutoras de jundiá.

4.4 Discussão

Nesta pesquisa não foram encontradas diferenças significativas para as variáveis avaliadas de PMF, CT, FC, IGS, IHS e IGV das fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta (P>0,05). Parra et al. (2008), testaram fontes lipídicas para a mesma espécie alimentadas em tanques-rede, com inclusão de 5% de banha suína, 5 % de óleo de girassol e 5 % de óleo de canola em dietas contendo 38 %

de proteína bruta e 10 % de lipídio total, com a mesma base protéica e não encontraram diferença significativa para as variáveis PMF, CT, FC e ganho em peso. Os valores de FC e PMF encontrados neste trabalho foram aproximados aos obtidos por Parra et al. (2008). Em matrizes de carpa capim (*C. idella*), o maior ganho em peso e maior índice gonadosomático foram obtidos nas fêmeas alimentadas com 35 % de proteína, em comparação às que receberam 20, 25, 30, ou 40 %, em dietas que continham 10 % de lipídio total (Khan et al., 2004).

O IGS é usado para monitorar a progressão da gametogênese em fêmeas de peixes teleosteos (Barcellos et al. 2001). Em carpa comum, *C. carpio*, o IGS foi maior nas fêmeas alimentadas com dieta formulada com 31 % de proteína do que as que foram alimentadas com 34 e 38 % de proteína, respectivamente (Singh & Dhawan, 1996). De acordo com Gunasekera et al. (1997), para a tilápia *O. niloticus* o IGS não foi afetado com o aumento do nível de proteína na dieta entre 20 e 30 %. Resultados semelhantes a este trabalho foram obtidos por Reidel et al. (2010) quando encontraram IGS em setembro-outubro, entre 13 e 15 % para fêmeas de jundiá criadas em gaiolas e alimentadas com dieta contendo 30 % de proteína bruta e 8,24 % de lipídio total e Barcellos et al. (2001), obtiveram pico máximo de IGS (12,28 %) no mês de outubro, similares aos encontrados neste trabalho, com os peixes alimentados com ração comercial contendo 30 % de proteína bruta.

O IHS e IGTV podem ser aumentados dependendo da quantidade de nutrientes e balanceamento da dieta, neste caso, o peixe deposita o excesso de energia da dieta na forma de gordura visceral (Du et al., 2005). A demanda de energia em bagre de canal aumentou durante o período de maturação gonadal, especialmente durante a mobilização na fase vitelogênica quando grandes quantidades de proteína, lipídios e glicogênio de fontes externas (dieta) e internas (tecidos e reservas somáticas) são sintetizadas pelo fígado (Babin et al., 2007) e são absorvidos e armazenados nos ovócitos para uso no desenvolvimento embrionário (Coward et al., 2002; Salhi et al., 2004). No presente estudo não foi observado aumento do peso do fígado e IGTV, o que sugere que a maior parte de energia foi utilizada na vitelogênese.

Os esteróides sexuais são usados como indicadores da atividade esteroidogênica durante o desenvolvimento e maturação do oócito (Barrero et al.,

2007). Os valores de testosterona não se mostraram diferentes sobre o padrão hormonal das fêmeas entre os tratamentos, porém houve progressão dos valores até os 45 dias experimentais e posterior diminuição até o final do período alimentar. Resultados semelhantes foram encontrados para a mesma espécie por Barcellos et al. (2001), quando as fêmeas apresentaram $15,12 \text{ ng mL}^{-1}$ na fase pré-vitelogênica, $53,5 \text{ ng mL}^{-1}$ na fase de vitelogênese inicial e $22,5 \text{ ng mL}^{-1}$ na fase de vitelogênese final. Mori et al. (2003), obtiveram para *Sebastes schlegeli* um pico de concentração plasmática de T, um mês antes do declínio de E_2 , esses resultados estão próximos aos encontrados para o jundiá em nosso trabalho. Em outro trabalho realizado por Guzmán et al. (2008), com fêmeas de Senegalese sole (*Solea senegalensis*) o padrão de T e E_2 aumentaram paralelamente à vitelogenina, porém observaram concentração máxima no período pré-desova, diminuindo posteriormente. Esses autores reforçam que embora ambos os esteróides tenham aumentado concomitantemente durante o período pré-desova, a T atingiu o pico um mês mais cedo do que o E_2 .

A concentração plasmática de E_2 aumenta gradualmente durante a vitelogênese até pouco antes do pico de maturação dos ovócitos e cai rapidamente durante a desova (Mori et al., 2003) o que sugere ser o mesmo padrão de *S. schlegeli* para o jundiá. Neste trabalho, o E_2 não apresentou diferença entre os tratamentos, no entanto apresentou aumento linear entre os períodos avaliados. Estes resultados são corroborados por Barcellos et al. (2001), que obtiveram para a mesma espécie e período reprodutivo (outubro), concentrações de 0,90; 2,65 e 9,10 E_2 (ng mL^{-1}), indicando uma vitelogênese final. Esses autores alimentaram os peixes com ração comercial contendo 30 % de proteína bruta, porém não fizeram referência ao conteúdo de lipídio total.

Barrero et al. (2007) não encontraram diferença significativa para T e E_2 entre quatro grupos de bagre de canal *I. punctatus* selecionados por peso e alimentados com ração contendo 36 % de proteína bruta, porém os resultados destes esteróides nos períodos analisados na estação reprodutiva, mostraram picos temporais similares ao jundiá.

As enzimas ALT e AST estão envolvidas no metabolismo protéico e podem contribuir para avaliar o aproveitamento dos nutrientes da dieta, também podem

determinar o aproveitamento da proteína para formação de energia (Melo et al., 2006) e podem ainda ser indicadoras de lesões hepáticas quando liberadas em maior quantidade na corrente sanguínea (Sparling et al., 1998). Neste trabalho a ALT manteve-se inalterada, não ocorrendo diferença significativa entre os tratamentos e os períodos, indicando uma condição hepática normal. Os resultados registrados entre 14,17 e 21,80 UI L⁻¹ estão de acordo com Barcellos et al. (2003), quando encontraram resultados entre 10,12 a 28,17 UI L⁻¹ para fêmeas da mesma espécie. A AST mostrou-se reduzida aos 90 dias para o nível de proteína da dieta (40 %) em relação à dieta com 28 % de proteína, sugerindo a utilização de proteína dietária para formação de energia (gliconeogênese) (Melo et al., 2006; Veiverberg et al., 2008). Os demais resultados para período e espaço temporal mantiveram-se inalterados e são similares aos obtidos por Barcellos et al. (2003), com variação entre 87,46 a 156,73 UI L⁻¹ para fêmeas de jundiá.

Os valores de PPT diferiram entre os tratamentos aos 45 dias, podendo-se observar uma tendência numérica de elevação da proteína plasmática com o aumento da proteína dietária, havendo claramente maior mobilização protéica para formação do vitelo. No espaço temporal igualmente houve elevação significativa da proteína circulante ($P > 0,05$). Barcellos et al. (2003), obtiveram índices entre 4,06 a 7,06 mg dL⁻¹ para fêmeas de jundiá, estes dados corroboram os valores obtidos neste trabalho. No soro, proteínas, lipídios e glicose tendem aumentar com o maior teor de proteína da dieta, esses aumentos podem ser devido ao excesso de aminoácidos que pode ser convertido em carboidratos ou, em menores quantidades, a gordura (Abdel-Tawwab et al., 2010).

Em relação aos triglicerídeos plasmáticos (TG), o aumento de proteína na ração aumentou o valor de TG até os 45 dias, havendo redução destes valores ao final (90 dias) para as concentrações iniciais, este perfil sugere que houve a utilização deste intermediário no metabolismo para obtenção de energia no desenvolvimento e maturação gonadal. Melo et al. (2006) observaram que para juvenis de jundiá *R. quelen*, os TG no plasma apresentaram redução nas suas concentrações a partir de 27 % de proteína na dieta. Porém, ao contrário, em peixes imaturos ocorre elevação de TG circulantes quando são utilizados elevados índices de proteína na dieta (Abdel-Tawwab et al., 2010).

A disponibilidade de aminoácidos livres no plasma aumentou a medida que se elevou o nível de proteína na dieta. Resultados semelhantes foram encontrados por Yamamoto et al. (1999), com *O. mykiss* e Suárez et al. (1995) com enguia europeia e também verificaram aumento do teor de aminoácidos livres no plasma com aumento do nível de proteína nas dietas para essas espécies. Melo et al (2006), igualmente verificaram aumento de aminoácidos livres para juvenis de jundiá *R. quelen*, com níveis crescentes de proteína nas dietas (20, 27, 34 e 41 %).

Os aminoácidos totais nos ovários foram similares nas dietas com níveis crescentes de proteína. No entanto, houve acréscimo significativo dentro de cada tratamento específico, no período que antecedeu a desova (45 dias aos 90 dias), isto é explicado pela deposição de nutrientes na formação do saco vitelínico, que é responsável pela alimentação da larva até a ingestão de alimento exógeno (Silva et al., 2004; Khan et al., 2005).

O nível de proteína na ração não influenciou os estádios de desenvolvimento ovocitário do jundiá. Em surubim *Pseudoplatystoma corruscans* alimentados com dietas com dois níveis protéicos e suplementação de óleo de milho também não foram encontradas alterações no processo de maturação gonadal (Andrade et al., 2010). No entanto o jundiá apresenta um padrão de desenvolvimento assincrônico dos ovócitos, apresentando em nosso estudo ovócitos em vários estádios de amadurecimento, sendo mais intenso o estágio IV ao final do experimento (15 de outubro), esses resultados são corroborados por Gomes et al. (2000) e Ghirdelli et al. (2007), que destacaram que em peixes de desova parcelada os ovócitos amadurecem em lotes e são eliminados em intervalos regulares, durante todo o ano ou parte dele. A atresia folicular ocorreu em apenas em um ovócito ao final do período experimental (tratamento 34 % de PB) o que pode ocorrer normalmente antes da desova nos ovócitos que não alcançaram a maturidade e, após a desova, naqueles que deixaram de ser eliminados (Ganeco et al., 2001).

De acordo com os crescentes níveis de proteína nas dietas, das 12 fêmeas induzidas, obtiveram-se quatro desovas para o nível de 28 %, três desovas para o nível de 34 % e três desovas para o nível de 40 % de proteína, correspondendo a 100 %, 75 % e 75 %, respectivamente. Os resultados obtidos neste trabalho foram superiores aos

obtidos por Sink et al. (2010), que obtiveram a melhor taxa de desova de 58,3 % para fêmeas de bagre de canal *I. punctatus* quando testaram interações entre fontes de proteína e lipídio contendo 35 % de PB e 12 % de lipídio total nas dietas.

A fecundidade representa o total de número de ovos produzidos por cada peixe e é expressa em termos de número de ovos por desova ou pela relação quantidade de ovos por peso corporal (Izquierdo et al., 2001). Este trabalho indicou que níveis crescentes de proteína na dieta para o jundiá não melhoraram a taxa de fecundidade, peso do ovo e número de ovos kg^{-1} de fêmea. Khan et al. (2004), observaram para a carpa capim *C. idella*, que a taxa de fecundidade e o número de ovos kg^{-1} de fêmea não diferiram entre as fêmeas alimentadas com níveis maiores que 25 % de proteína (30, 35 e 40 %) e 10 % de lipídio total em todas as dietas, sendo que apenas o grupo que recebeu dieta com 20 % de proteína apresentou resultados inferiores. Em outro estudo realizado por Khan et al. (2005), a carpa indiana *Labeo rohita* alimentada com dietas contendo níveis entre 20 e 40 %, apresentou melhor taxa de fecundidade com os níveis entre 25 e 30 % de proteína na dieta ($P < 0,05$). A fecundidade relativa também não foi afetada pela variação de níveis de proteína (10, 20 e 35 %) em tilápia nilótica *O. niloticus* (Gunasekera et al., 1996), corroborando com o presente estudo.

Os resultados de peso do ovo, números de ovos kg^{-1} de fêmea e ovos mL^{-1} permaneceram inalterados com o aumento de proteína nas dietas. Parra et al. (2008), também não obtiveram diferença significativa em peso do ovo de fêmeas de jundiá alimentadas com fontes de lipídio (banha de porco, óleo de girassol e óleo de canola). Outros trabalhos com tilápia (Gunasekera et al., 1997) e carpa capim (Khan et al., 2004) não mostraram diferença entre nível de proteína na dieta e tamanho do ovo.

O diâmetro do ovo apresentou correlação significativa ($P < 0,05$) com área do ovo ($r = 0,95$), número de ovos mL^{-1} de desova ($r = -0,70$) e número de ovos kg^{-1} de fêmea ($r = 0,59$, $P < 0,10$). Em outras espécies, tilápia do Nilo *O. niloticus* (Gunasekera et al., 1996) e “sea bass” *Dicentrarchus labrax* (Cerdeira et al., 1994), fêmeas alimentadas com baixos níveis de proteína mantêm o tamanho do ovo e diminuem o número de ovos produzidos, na tentativa de manter a propagação da espécie. Entretanto, o nível de proteína da dieta das fêmeas não influenciou a morfometria de ovos e larvas de jundiá. Gunasekera et al. (1996, 1997) não verificaram efeito no diâmetro dos ovos de tilápia

do Nilo *O. niloticus* com níveis crescentes de proteína na dieta dos reprodutores (10, 20 e 35 %). Chong et al. (2004), igualmente não encontraram diferença em comprimento das larvas nascidas de fêmeas de “swordtails” *Xiphophorus helleri* alimentadas com 20, 30, 40, 50 ou 60 % de proteína e 9,5 % de lipídio na dieta.

Embora algumas espécies possam investir em um grande número de pequenos ovos, outras preferem produzir uma ninhada pequena com ovos maiores e ambas estratégias reprodutivas podem ser bem sucedidas (Yanes-Roca, 2009). No presente trabalho, o diâmetro do ovo, área do ovo e diâmetro do saco vitelínico não mostraram diferença significativa entre os tratamentos. Resultados similares foram encontrados por Parra et al. (2008), que também não obtiveram diferença significativa nessas variáveis em fêmeas de jundiá alimentadas com fontes lipídicas em dietas isoprotéicas (38 %) e isolipídicas (10 %). De acordo com Khan et al. (2004), fêmeas de carpa capim *C. idella*, também não aumentaram o diâmetro do ovo com níveis progressivos de proteína na dieta (20, 25, 30, 35 e 40 %) corroborando com este trabalho.

O aumento do nível de proteína na dieta materna influenciou no crescimento das pós-larvas até os 14 dias de alimentação, nas variáveis PMF, CT e PxS. Chong et al. (2004), igualmente não obtiveram diferença entre o número de larvas de fêmeas de “swordtails” *X. helleri* alimentadas com 30, 40, 50 ou 60 % de proteína na dieta e 9,5 % de lipídio total, quando calcularam o número de larvas por grama de proteína consumida, o resultado foi inferior apenas na dieta com 20 % de proteína. Por outro lado, El-Sayed et al. (2003), alimentaram fêmeas de tilápia com dietas contendo 25, 30, 35 ou 40 %, de proteína e observaram efeito linear positivo do nível de proteína sobre o peso das pós-larvas, em três condições de salinidade da água. Contrariando estes resultados, no presente trabalho, houve efeito negativo do aumento de proteína sobre a qualidade da progênie. Sink et al. (2010), trabalharam com fontes protéicas (farinha de peixe “menhaden”, farinha de vísceras de aves, farelo de soja e farelo de algodão) e lipídicas (óleo de peixe “menhaden” e gordura de aves) em dietas isoprotéicas (36 % de proteína) e isolipídicas (12 % de lipídio) para fêmeas de bagre de canal (*I. punctatus*) e obtiveram sobrevivência das larvas aos 14 dias após a desova de 92,5 %, 92,1 %, 83,6 % e 68 %, respectivamente, sendo as duas primeiras superiores ao deste trabalho. Parra et al. (2008), alimentaram matrizes de jundiá com dietas isoprotéicas (38 % de

proteína e 10 % de lipídio total) e para a mesma espécie, registraram taxas de sobrevivência aos 14 dias de alimentação um pouco inferiores aos valores registrados neste trabalho, e também não encontraram diferença entre peso e produto PxS nas larvas alimentadas até 14 dias.

Parece haver uma relação bastante clara entre níveis de proteína e níveis de lipídios utilizados nas dietas. Resultados obtidos com maiores índices de proteína e menores níveis de lipídio resultaram em valores semelhantes aos obtidos neste trabalho, como os descritos por Chong et al. (2004); Khan et al. (2004); Parra et al. (2008); Reidel et al. (2010).

Contudo, não é possível fazer uma comparação direta com relação aos requerimentos protéicos dos reprodutores das diferentes espécies de água doce em razão das diferenças entre as composições das dietas e metodologias usadas (Gunasekera et al., 1997; El-Sayed et al., 2003). Os requerimentos de proteína na dieta dos peixes também são afetados por fatores como a qualidade da proteína, nível de lipídio e digestibilidade, mais estudos considerando estes fatores, serão necessários para uma determinação mais precisa (Chong et al., 2004). De acordo com Médale & Guillaume (2001), quando dietas contêm elevados níveis de lipídios, ocorre diminuição da oxidação dos aminoácidos, resultando em efeito poupador de proteína.

4.5 Conclusões

- A dieta com 28 % de proteína bruta resultou em maior número de fêmeas desovadas;
- Os parâmetros bioquímicos não foram alterados com o aumento dos níveis de proteína utilizados nas dietas;
- O aumento do nível de proteína nas dietas não influenciou a morfometria dos ovos e larvas de jundiá.
- O nível de 28 % de proteína da dieta resultou em melhor qualidade em crescimento da progênie.

5 CAPITULO 2 – Experimento II

ASPECTOS ZOOTÉCNICOS, REPRODUTIVOS, PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS OVÁRIOS E MÚSCULOS DE FÊMEAS DE JUNDIÁ ALIMENTADAS COM TRÊS NÍVEIS DE LIPÍDIO NA DIETA

5.1 Introdução

Atualmente as rações comerciais são produzidas para peixes cultivados com fins comerciais. No entanto, ainda não existem rações específicas para peixes reprodutores, o que certamente contribui para um menor desempenho reprodutivo e consequente reflexo na larvicultura.

Assim como a proteína, os lipídios (gordura e ácidos graxos) são importantes componentes das dietas dos reprodutores e podem influenciar o desenvolvimento gonadal e limitar a quantidade e qualidade de ovos e larvas (Johnston et al., 2007; Loochmann et al., 2007; De Silva et al., 2008; Yanes-Roca et al., 2009). Izquierdo et al. (2000), reforçam que os lipídios estão entre os mais importantes fatores nutricionais que afetam a sobrevivência e o crescimento nas primeiras fases. A deficiência de ácidos graxos essenciais em período que antecede a desova causa significativa redução na produção de ovos, menor índice de eclosão, além de várias deformidades morfológicas e um limitado número de larvas sobreviventes (Corraze, 2001). Em uma pesquisa realizada por essa autora, com trutas submetidas a um período forçado de fome, resultou em insuficientes reservas ocasionando uma diminuição da fecundidade e baixa produção de ovos.

A proteína na dieta pode servir como fonte de energia, porém pode ser poupada pelo uso de nutrientes não protéicos como os lipídios, diminuindo os custos e maximizando a retenção de nitrogênio (Médale & Guillaume, 2001; Shiau, 2002).

Embora a presença de lipídios na dieta, mesmo em concentrações elevadas, não afete o coeficiente de digestibilidade das proteínas (Guillaume & Choubert, 2001), uma excessiva quantidade de lipídios pode conduzir a uma diminuição do consumo de alimento, reduzindo a ingestão de outros nutrientes (Ling et al., 2006).

Historicamente os óleos de peixe têm sido usados como fonte de lipídio nas dietas para peixes, sendo extraídos de pequenos peixes pelágicos marinhos. No entanto, com a redução destes estoques naturais os custos dessa matéria prima tornaram-se elevados, necessitando-se avaliar fontes alternativas para esses óleos, possibilitando a expansão da indústria global de aquacultura (Ng et al., 2004).

Henderson & Tocher (1987), afirmam que os peixes assim como todos os outros vertebrados não apresentam as enzimas $\Delta 12$ e $\Delta 15$ dessaturases para a síntese dos ácidos graxos essenciais (AGs) linoléico e linolênico e desta forma, devem ser supridos pela dieta para síntese endógena e converter pelo processo de alongação e dessaturação os demais ácidos graxos da série. Os AGs da família n-3 não podem ser transformados em membros da família n-6, e vice-versa. Isto ocorre porque a inclusão de uma dupla ligação pela Δ -dessaturase e a inclusão de dois átomos de carbono pela alongase se dá entre a carboxila e a primeira dupla da cadeia carbônica do ácido graxo, não alterando desta forma a posição da dupla ligação em relação ao grupo metil terminal da cadeia carbônica (Visentainer & Franco, 2007).

Mourente et al. (2005), argumentaram que pesquisas vêm sendo realizadas com fontes alternativas de lipídios como os óleos vegetais, entre eles os óleos de soja, oliva, linhaça e canola. Os óleos vegetais são ricos em ácidos graxos essenciais especialmente da série n-6 (ácido linoléico) e menor quantidade de ácidos graxos n-3 (ácido linolênico), que por ação das enzimas dessaturases e alongases os peixes são capazes de produzir ácidos graxos altamente insaturados (HUFAS) (Sargent et al., 1999).

A composição dos ácidos graxos dos tecidos e dos ovos dos peixes reflete o índice de ácidos graxos supridos na dieta dos reprodutores (Fernández-Palacios, 1997; Corraze, 2001).

Os ácidos graxos da série n-3: linolênico (ALN), eicosapentanóico (EPA), docosahexanóico (DHA) e os ácidos graxos da série n-6: linoléico (AL) e araquidônico

(AA) assumem importantes funções na reprodução dos peixes, na viabilidade de ovos e larvas, maior tolerância ao estresse e sobrevivência durante a metamorfose larval (Sargent et al., 1999; Wiegand et al., 2004; Pickova et al., 2007). Os peixes cultivados apresentam variações quanto às exigências em lipídios, sobretudo na sua composição e relação de ácidos graxos essenciais das séries n-3 e n-6. Em geral, conforme Steffens (1997), os peixes de água doce apresentam menor relação n-3:n-6, que pode ser de 1:4, enquanto para peixes marinhos essa relação é alta podendo variar de 5-10:1. Em peixes marinhos as dietas naturais proveniente do fitoplâncton são mais abundantes em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS) de cadeia longa da série n-3 (Corraze, 2001) e peixes carnívoros no ambiente de água marinha dependem de uma dieta rica em ácidos graxos altamente insaturados (n-3) (HUFAS) especialmente EPA e DHA (Sargent et al., 2002). Já em peixes de água doce as dietas naturais são compostas de fitoplâncton, crustáceos e larvas de insetos ricos em AL n-6, ALN n-3 e EPA n-3 (Steffens, 1997).

O jundiá possui desovas parceladas, com período reprodutivo prolongado, de agosto a março, podendo ocorrer variações a cada ano e de um lugar para outro e não possui cuidado parental (Narahara et al., 1985; Gomes et al., 2000). Os estágios de clivagem ocorrem nas três primeiras horas e a eclosão ocorre em 30,5 horas após a fertilização a uma temperatura da água de 24 ± 1 °C (Pereira et al., 2006).

De acordo com Izquierdo et al. (2001), o desenvolvimento gonadal e a fecundidade são afetados por certos nutrientes na dieta, especialmente em reprodutores com desova contínua e curtos períodos vitelogênicos. Esses autores evidenciam que também, como em outros animais, muitas das deficiências e dos problemas encontrados durante as fases iniciais estão diretamente relacionadas com o regime de alimentação (incluindo nível nutricional e duração) dos reprodutores.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do nível de lipídio da dieta sobre o desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e reprodutivo de fêmeas de jundiá *R. quelen*.

5.2 Material e métodos

Todos os procedimentos envolvendo os animais foram conduzidos de acordo com as normas aprovadas pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Universidade Federal de Santa Maria, sob número 23081.006974/2009-96.

Para a realização deste experimento, utilizou-se o melhor tratamento do primeiro (28 % de proteína bruta e 14 % de lipídio total), fixando-se os níveis em aproximadamente 8, 14 e 20 % de lipídio total e 28 % de proteína bruta (isoprotéicas).

5.2.1 Local e época

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental de Piscicultura, do Polo de Modernização Tecnológica do Médio Alto Uruguai – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Frederico Westphalen, Rio Grande do Sul, Brasil, (27°38'S e 53°43'O), entre 15 de julho e 18 de outubro de 2009, compreendendo o período de alimentação dos reprodutores e nascimento das larvas, e no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, (29°43'S e 53°42'O), no período pós-larval, durante 14 dias. A escolha do período de desova foi estabelecida de acordo com Barcellos et al. (2001) que concluíram que *R. quelen* possui dois picos com maior índice gonadossomático, nos meses de outubro, representando 12,28 % e dezembro 9,1 % em relação ao peso corporal das fêmeas analisadas, desta forma optou-se pelo mês de maior pico.

5.2.2 Dietas experimentais

Foram avaliadas três rações contendo 8 % (L8), 14 % (L14) e 20 % (L20) de lipídio total e isoprotéicas com aproximadamente 28 % de proteína bruta (Tabela 9). Os ingredientes das rações para as fêmeas foram pesados a partir das formulações e misturados até a completa homogeneização em misturador elétrico tipo amassadeira, com adição de água (50 % sobre o peso seco dos ingredientes), a massa resultante foi peletizada em máquina de moer carne formando fios e colocada em saco plástico e agitada promovendo sua quebra, em seguida levada à estufa com circulação de ar forçado entre 48 e 50 °C por 48 horas, após foram moídas em triturador manual, peneiradas entre 6-8 mm, sendo parte (30 %) armazenada em ambiente seco e ventilado e o restante armazenado em freezer a -20 °C.

Tabela 9 – Ingredientes e composição percentual e química das dietas com diferentes níveis de lipídio utilizadas para fêmeas de jundiá*.

Ingredientes (%)	Tratamentos		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
Farinha de carne e ossos suína	22,9	24,1	24,9
Farelo de soja	22,9	24,1	24,9
Farelo de arroz desengordurado	26,87	22,28	19,38
Milho amarelo	23,37	18,4	15
Óleo de soja	0,78	8,1	12,9
Calcário calcítico	0,78	0,6	0,49
DL-Metionina	0,4	0,42	0,43
Cloreto de sódio (NaCl)	0,5	0,5	0,5
Vitaminas e minerais ²	1,5	1,5	1,5
Aglutinante ³	1,5	1,5	1,5
Composição centesimal analisada (%)			
Nutrientes			
Umidade ⁴	6,11	6,21	6,26
Proteína bruta ⁴	28,47	28,13	28,76
Energia bruta (kal/kg) ⁵	3.679,4	4.031,7	4.261,8
Energia bruta (kcal/kg)/proteína (g)	12,92	14,33	14,82
Extrato etéreo ⁴	8,45	14,36	20,78
Extrato não nitrogenado ⁵	38,73	33,05	32,24
Matéria mineral ⁴	11,56	10,86	10,62
Fibra bruta ⁴	3,98	3,91	4,01
Cálcio ⁴	1,78	1,81	1,85
Fósforo (total) ⁴	1,75	1,64	1,61
Lisina ⁶	1,55	1,34	1,36
Metionina+Cistina ⁶	1,21	1,13	1,15
Triptofano ⁵	0,27	0,33	0,38
Treonina ⁶	1,1	1,09	1,08
Arginina ⁶	2,31	2,31	2,23
Valina ⁶	1,48	1,37	1,31
Isoleucina ⁶	1,25	1,09	1,05
Leucina ⁶	2,33	2,06	2,01
Histidina ⁶	0,55	0,72	0,74
Fenilalanina+tirosina ⁶	2,93	2,27	2,19

*Dietas ajustadas de acordo com o experimento I.

¹L8 = 8 % de lipídio total; L14 = 14 % de lipídio total; 20 % de lipídio total.

²Níveis de garantia por quilograma do produto (MigPlus[®]): Ácido fólico: 250 mg; ácido pantotênico: 5.000 mg; antioxidante: 0,60 g; biotina: 125 mg; cobalto: 25 mg; cobre: 2.000 mg; ferro: 820 mg; iodo: 100 mg; manganês: 3.750 mg; niacina 5.000 mg; selênio: 75 mg; vitamina A: 1.000.000 UI; vitamina B1: 1.250 mg; vitamina B12: 3.750 mcg; vitamina B2: 2.500 mg; vitamina B6: 2.485 mg; vitamina C: 28.000 mg; vitamina D3: 500.000 UI; vitamina E: 20.000 UI; vitamina K: 500 mg; zinco: 17.500 mg.

³Lignosulfonato de cálcio e magnésio (Melbond[®]).

⁴Análises efetuadas por NUTRON[®] Alimentos Ltda., São Paulo, Brasil.

⁵Calculada a partir de Rostagno et al. (2005).

⁶Análises efetuadas por LAMIC[®] (Laboratório de Micotoxinas) UFSM.

Para avaliar o desempenho das pós-larvas foi fornecida para todos os tratamentos dieta nutricionalmente similar à utilizada no experimento I, preparada com 37 % de levedura de cana; 20 % de gema de ovo cozida; 30 % de fígado de aves (33 % de MS); 2 % de lecitina de soja; 8 % de farelo de arroz desengordurado e 3 % de mistura vitamínica e mineral e moída entre 100 e 400 μm .

5.2.3 Animais, instalações e delineamento experimental

Foram utilizadas 93 fêmeas de jundiá com 14 meses de idade e peso entre 596,28 g e 640,4 g, adquiridos ainda juvenis da Estação de Reprodução de Peixes Calegaro de Panambi, RS, criados em viveiros de terra e posteriormente adaptados durante 90 dias em tanques-rede. As fêmeas foram distribuídas ao acaso, em seis tanques-rede com capacidade útil individual de 1 m^3 , na proporção de 11 por tanque, neste momento 27 fêmeas foram abatidas para coleta de sangue e ovários. Os tanques-rede foram fixados em um reservatório de terra escavado, com aproximadamente 2000 m^2 e com profundidade média de $3,5 \pm 0,4$ metros no local onde os mesmos foram fixados. Em cada tanque-rede foi colocado um comedouro submerso tipo tubular, fixado ao centro e distanciado em 20 cm da base. Também, 24 machos de jundiá, foram mantidos em dois tanques-rede suspensos em um tanque escavado com aproximadamente 1000 m^2 e destes, 12 machos foram selecionados para fecundação das fêmeas. Estes tanques-rede, com capacidade de 1 m^3 , eram providos de tela lateral com 20 cm submerso e 20 cm acima do nível da água, para evitar a perda da ração flutuante. Nos dois reservatórios de terra foram colocados peixes onívoros (carpa húngara e pacu) para consumir eventuais invertebrados que pudessem servir de alimento aos jundiás utilizados neste estudo. Os dois reservatórios de terra foram drenados e desinfetados previamente eliminando peixes indesejáveis e no início do experimento foram colocados peixes onívoros (carpa húngara e pacu) para consumir eventuais invertebrados que pudessem servir de alimento aos jundiás utilizados neste estudo.

5.2.4. Manejo alimentar dos reprodutores e pós-larvas

As fêmeas foram alimentadas durante 90 dias como proposto por Fernández Palacios et al. (1995), diariamente, às 9 e às 16 horas. A ração foi pesada e ministrada de acordo com a biomassa de cada tanque-rede obtida no início e aos 45 dias, variando de 2 % a 3 %, até o final do experimento. Os machos foram alimentados diariamente, no mesmo horário das fêmeas, entre 2 % a 3 % da biomassa, com ração comercial extrusada marca SUPRA[®] Alisul Alimentos Ltda, contendo no rótulo da embalagem o mínimo de 32 % de proteína bruta. As pós-larvas foram alimentadas *ad libitum* a cada duas horas, das oito às 18 horas, até 14 dias durante a transição entre a absorção do saco vitelínico para a alimentação juvenil como proposto por Skin et al. (2010). As sobras de rações e dejetos dos peixes, nos comedouros, foram retiradas diariamente antes da primeira alimentação.

5.2.5 Biometrias e coletas de vísceras, gônadas e sangue

Foram realizadas três biometrias, no início do experimento (dia zero), aos 45 e aos 90 dias, com a última alimentação fornecida 24 horas antes das coletas, para avaliação de peso médio final (PMF, g), comprimento total (CT, cm) e fator de condição [FC = (peso x 100) / (comprimento total³)] (Steffens, 1987). Em cada biometria, nove fêmeas por tratamento, foram abatidas e evisceradas para obtenção de valores de pesos de fígado, gônadas (g), índices hepatossomático, gonadossomático e de gordura visceral, em porcentagem do peso inteiro. Também foram coletados os ovários para análise de aminoácidos, perfil lipídico e sangue para análises de proteína plasmática total (PPT), testosterona (T), estradiol (E₂), aminoácidos livres (AAL) e triglicérides (TG).

5.2.6 Perfil de testosterona e estradiol

Amostra de 2 mL de sangue de três peixes de cada tratamento, foram coletados no início (dia zero), aos 45 e 90 dias. O sangue foi obtido da veia caudal usando seringa heparinizada, armazenado em tubo de ensaio e em seguida centrifugado (3000 rpm por 10 minutos). Foi separado o plasma e armazenado em freezer a -20 °C para posterior análise simultânea das três coletas. Ao final do experimento os esteróides foram extraídos das amostras de plasma através de teste enzimelinked immunosorbent assay (ELISA) e kits (Oxford Biomedical). Em cada amostra de plasma foi adicionado 1 mL de éter etílico e então incubadas com 50 µL de E₂ ou T com conjugado enzimático de anticorpos e placas revestidas, por 1 hora em temperatura ambiente. O conjugado enzima ligada foi detectado pela adição de 150 µL de substrato (tetramethylbenzidine 3,3', 5,5'), que ligado ao conjugado enzima gerou cor após 30 minutos. A intensidade do desenvolvimento da cor foi inversamente proporcional à quantidade de E₂ ou T na amostra. As absorbâncias da amostra foram lidas de acordo com as normas, tanto a 650 nm e 490 nm, com um leitor de microplacas modelo 550 (Bio-Rad, Hercules, CA) (Barcellos et al., 2001).

5.2.7 Determinação da proteína total, aminoácidos livres e triglicerídeos

Os níveis plasmáticos de proteína total e triglicerídeos foram determinados utilizando sistema colorimétrico seguindo-se os protocolos descritos nos kits Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratório Ltda., Goiânia, Goiás, Brasil. Para a quantificação de aminoácidos livres, o plasma foi diluído dez vezes em tampão fosfato de potássio (TFK) 20 nM, pH 7,5 e após centrifugado a 1000 g por dez minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante neutro (0,25 mL) foi usado para quantificação colorimétrica de acordo com Spies (1957), utilizando ninidrina 1,5% em álcool isopropílico como reagente de cor.

5.2.8 Aminoácidos totais dos ovários

No início (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias foram abatidas três fêmeas por tratamento para coleta de ovários e em seguida pesados e colocados em estufa com circulação de ar forçado durante 12 horas a 104 °C para extração da matéria seca e posterior análise. A determinação dos teores de aminoácidos foi realizada no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) da UFSM, Santa Maria, RS Brasil, por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras foram submetidas a hidrólise prévia com ácido clorídrico (HCl) bidestilado 6 N, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivados feniltiocarbamilaminoácidos (PITC-aa), em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag – 3,9x300 mm), com detecção por UV a 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na altura de cada pico de aminoácido, tendo-se usado como referência a altura do pico do padrão interno de aminoácidos com concentração conhecida, com o padrão derivado nas mesmas condições e no mesmo tempo das amostras.

5.2.9 Perfil lipídico das dietas

Após o preparo, foram coletadas amostras das dietas e enviadas ao Laboratório NIDAL (UFSM) para análise do perfil lipídico (Tabela 10).

Tabela 10 – Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de fêmeas de jundiá (% de ácidos graxos nos lipídios totais).

Ácidos graxos ²	Tratamentos (%)		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
C14:0	0,92	0,59	0,54
C16:0	21,21	17,73	16,49
C16:1	1,21	0,78	0,65
C18:0	10,57	8,22	7,18
C18:1n-9	33,88	30,18	28,73
C18:2n-6	27,78	36,88	40,53
C18:3n-3	1,95	3,27	3,76
C20:1n-9	0,65	0,48	0,41
∑Saturados	33,78	27,89	25,50
∑Insaturados	66,22	72,11	74,50
∑Monoinsaturados	36,01	31,63	29,94
∑Poliinsaturados	30,71	40,82	44,87
Insaturados/Saturados	1,96	2,59	2,92
∑n-3	1,95	3,27	3,76
∑n-6	28,33	37,30	40,89
n-6/n-3	14,53	11,42	10,87

¹L8= 8 %; L14= 14 % e L20= 20 % de lipídio na dieta.

²Os AGs C10:0, C12:0, C15:0, C17:0, C17:1, C18:3n-6, C20:0, C20:2, C20:5n-3; C22:6n-3; C20:3n-6; C20:4n-6; C20:3n-3, C22:0 e C24:0 não foram detectados ou representam menos que 0,5%.

Para avaliação dos lipídios totais e perfil de ácidos graxos dos ovários e músculo foram abatidas três fêmeas por tratamento nos dias zero, 45 e 90. Os ovários (inteiros) e músculo dorsal (parte mediana com aproximadamente 3x5 cm, sem pele), foram pesados e colocados em freezer (-18 °C) durante 12 horas para congelamento e após liofilizados e armazenados em botijão criogênico em temperatura negativa de -196 °C, posteriormente foram analisadas onde a gordura foi extraída e quantificada pelo método proposto por Bligh-Dyer (1959). Alíquotas (2-3 mL) do extrato clorofórmico de lipídios foram evaporadas a 50 °C usando uma bomba de vácuo, seguidas por saponificação em solução de KOH metanólico e esterificação com H₂SO₄ em solução de metanol (Hartman & Lago, 1973). Os ácidos graxos metilados foram analisados por um cromatógrafo a gás Agilent Technologies (HP 6890) equipado com uma coluna capilar HP-INNOWax (polietilenoglicol 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e detector de ionização em chama. A temperatura do injetor foi fixada em 250 °C e o gás de arraste foi o nitrogênio

(0,9 mL min⁻¹). Após a injeção (1 mL, 50:1 razão de separação), a temperatura do forno foi aumentada de 120 °C a 200 °C a 20 °C min⁻¹ e mantida a esta temperatura durante 9 min e em seguida, aumentou de 200 °C para 250 °C a 10 °C min⁻¹ e mantida nesta temperatura durante 10 min. Os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma, Saint-Louis, E.U.A.), foram submetidos às mesmas condições e os tempos de retenção foram utilizados para identificar os ácidos graxos. Os resultados foram expressos como porcentagem da área total dos ácidos graxos identificados.

5.2.10 Avaliação histológica das gônadas (ovários)

Para avaliação histológica das gônadas foram coletadas amostras da porção intermediária através de corte transversal dos ovários, com aproximadamente dois centímetros de comprimento e fixadas em formol tamponado. Para a preparação das lâminas em duplicata, foi utilizada técnica padrão recomendada pelo Laboratório de Fitossanidade Animal da UFSM, utilizada no experimento I.

A avaliação microscópica do desenvolvimento ovocitário foi realizada de acordo com a classificação proposta por Ganeco et al. (2001) e Ghirdelli et al. (2007) em estágio I: imaturo; estágio II: maturação inicial; estágio III: maturação intermediária; estágio IV: maduro e estágio V: regressão. As lâminas foram fotografadas e analisadas em microscópio biológico marca Bell, modelo Top Light B2 (Itália), em aumento de 40x.

5.2.11 Indução hormonal, desova e coletas de ovos e larvas

Para a realização das desovas, duas fêmeas por tanque-rede (quatro por tratamento) foram induzidas com extrato hipofisário de carpa (EHC, cinco mg kg⁻¹ de peso vivo), além de 12 machos induzidos com três mg kg⁻¹ de peso vivo de EHC (Legendre et al., 1996; Baldisserotto & Radünz Neto, 2005). Depois das desovas, os

casais foram retirados das incubadoras, permanecendo apenas os ovos. Para estimar a taxa de fecundação, na hora zero, foi estabelecido o tempo de três horas após o início da desova de cada fêmea, em seguida foi coletado, drenado e medido em proveta o volume total dos ovos de cada incubadora (Silva 2004). Foram retiradas três amostras de 1 mL para contagem de ovos viáveis e mortos, para cálculo da taxa de fecundidade conforme Silva (2004). Para avaliação dos caracteres morfométricos dos ovos, foram coletadas amostras com 10 ovos de cada incubadora, onde foi pesado, medido o diâmetro do ovo (DO) e área do ovo (AO), à zero hora (3 horas após o início da desova), seis, 12, 18 e 24 horas após a desova, em seguida os ovos foram fixados em formol neutro (4%) para posterior análise através de microscópio Motic® AE21, com câmara fotográfica Moticom® e um analisador de imagens acoplado ao programa Motic Images Plus 2,0 ML, com aumento de 40x. Amostras de 10 larvas foram coletadas de cada incubadora no momento da eclosão, às 12, 24, 36 e 48 horas, onde foram medidos o comprimento total, o diâmetro do saco vitelínico (DSV) e a área do saco vitelínico (ASV), através de estereomicroscópio Motic® SMZ 168, com câmara fotográfica Moticom® e um analisador de imagens acoplado ao programa Motic Images plus 2,0 ML. Após a absorção do saco vitelínico (aproximadamente 48 horas depois da eclosão), três amostras de 160 pós-larvas foram coletadas de cada incubadora e distribuídas em dois sistemas de criação de pós-larvas, dotados de biofiltro e temperatura controlada de acordo com Parra et al. (2008). Os ovos e larvas foram pesados em balança analítica com precisão de 0,0001g (Shimadzu, Kioto, Japan), em seguida fixados em formol neutro a 4% (Eiras et al., 2000), para posterior biometria com auxílio de estereomicroscópio e papel milimetrado.

5.2.12 Biometrias e parâmetros zootécnicos das pós-larvas

Para a biometria inicial foram coletadas dez larvas do mesmo lote. Aos sete dias de criação uma amostra de dez larvas de cada repetição foi retirada para biometria. Aos 14 dias, dez larvas de cada unidade experimental, foram medidas e todas as larvas

sobreviventes foram contadas e pesadas. Os parâmetros zootécnicos avaliados foram: peso médio (PM, g); comprimento total (CT, cm); taxa de crescimento específico (TCE, %) segundo Legendre et al. (1996), ($\frac{\log_n(\text{peso final}) - \log_n(\text{peso inicial})}{\text{período experimental}}$); fator de condição (FC) conforme Jobling et al. (1995), $(\text{peso} \times 100) / (\text{comprimento total})^3$, sobrevivência (SOB) em percentual e produto peso x sobrevivência (PxS, g).

5.2.13 Qualidade da água do reservatório, sistemas de incubação e larvicultura

A água do reservatório de terra onde foram colocados os tanques-rede foi monitorada semanalmente verificando-se os níveis de oxigênio, pH, amônia, nitrito, alcalinidade, dureza, condutividade elétrica, transparência e diariamente a temperatura, no sistema de incubação e na larvicultura foram realizadas as mesmas análises diariamente com exceção da transparência.

Para a realização das análises de pH foi utilizado um pHmetro DM20 (Digimed, São Paulo, SP, Brasil), o oxigênio dissolvido foi medido com um oxímetro Orion 810 (Jundilab, Jundiaí, SP, Brasil), para a condutividade elétrica foi utilizado um condutímetro (WTW 315i/SET, Weilheim, Germany) e a transparência foi medida com disco de Secchi. As demais análises foram realizadas através de kit analítico Alfa Tecnoquímica (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil).

Foram aferidos também os parâmetros físico-químicos da água dos sistemas de incubação e larvicultura, diariamente, utilizando-se os mesmos aparelhos citados para aferição da água do reservatório, excetuando-se a transparência e condutividade elétrica.

No reservatório os parâmetros determinados foram: pH: $7,07 \pm 0,2$ às 9:00 e $7,07 \pm 0,3$ às 16:00; temperatura: $17,14 \pm 2,6$ °C às 9:00 e $18,44 \pm 2,8$ °C às 16:00; alcalinidade: $27,36 \pm 3,8$ mg⁻¹ de CaCO₃; dureza: $33,71 \pm 6,1$ mg⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido: $6,94 \pm 1,2$ mg⁻¹ às 9:00 e $6,96 \pm 0,8$ mg⁻¹ às 16:00; amônia (NH₄): $0,02 \pm 0,01$

mg⁻¹ e nitrito: não detectado; condutividade elétrica: 48,43±3,1 μS cm⁻¹; e transparência: maior que 150 cm.

No sistema de incubação e larvicultura os parâmetros foram aferidos diariamente e situaram-se em 7,07±0,12 para pH; temperatura: 23,5±1,8 °C; alcalinidade: 40,08±0,3 mg⁻¹ de CaCO₃; dureza: 27,8±0,1 mg⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido: 6,48±0,91 mg⁻¹; amônia (NH₄): 0,1±0,1 mg⁻¹ e nitrito (NO₂): 0,02±0,01 mg⁻¹ e 7,08±0,11 mg⁻¹ para pH; temperatura: 24,7±1,8 °C; alcalinidade: 45,1±0,3 mg L⁻¹ de CaCO₃; dureza: 36,0±0,25 mg L⁻¹ de CaCO₃; oxigênio dissolvido: 7,87±0,2 mg L⁻¹; amônia (NH₄): 0,2±0,01 mg⁻¹ e nitrito (NO₂): 0,05±0,01 mg⁻¹, respectivamente.

5.2.14 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições para as fêmeas induzidas hormonalmente e três repetições para as demais fêmeas. As larvas foram distribuídas em três tratamentos e três repetições de acordo com as dietas maternas. Os dados foram submetidos à teste de normalidade de Shapiro-Wilk e para os parâmetros zootécnicos das fêmeas foram realizadas análises de covariância seguidas pelo teste Pdiff, para os índices reprodutivos foram realizadas análises de variância seguidas pelo teste de Duncan (P<0,05). Para as larvas, no dia zero as médias de peso foram submetidas à análise não paramétrica de Kruskal-Wallis e as demais variáveis comparadas pelo teste de Duncan, usando P<0,05. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico "SAS" (2001).

5.3 Resultados

5.3.1 Desempenho zootécnico das fêmeas

Pode ser observado na Tabela 11, que o aumento do nível de lipídio nas dietas, não influenciou o peso médio ajustado das fêmeas aos 45 dias entre os tratamentos L8: $707,89 \pm 57,87$ g e L20: $697,19 \pm 107,35$ g, sendo L14: $749,51 \pm 25,21$ g, superior ao L20 ($P < 0,05$). Entretanto, aos 90 dias o PM foi maior para L14: $945,94 \pm 91,28$ g e L20: $845,31 \pm 123,76$ g comparado ao L8: $827,22 \pm 89,93$ g ($P < 0,05$). FC, CT, CP, IHS e IGS não diferiram entre os tratamentos. O IGV aos 45 dias foi superior em L14 e L20 e ao final (90 dias) houve aumento gradual deste índice com o acréscimo de lipídio nas dietas (L8: 8,19; L14: 18,12 e L20: 32,24, respectivamente) ($P < 0,05$).

Tabela 11 – Valores de peso, comprimento total, fator de condição e índices gonadossomático, hepatossomático e de gordura visceral das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio na dieta.

Variáveis	Tratamentos		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
		inicial	
Peso (g)	596,28±43,29	640,40±28,28	589,79±41,19
Comprimento padrão (cm)	30,50±1,09	30,85±0,6	30,10±1,41
Comprimento total (cm)	36,98±1,32	37,48±0,66	36,63±1,44
Fator de condição	1,18±0,54	1,22±0,42	1,19±0,35
Índice gonadossomático ² (%)	3,86±1,85	3,86±1,85	3,86±1,85
Índice hepatossomático ² (%)	1,29±0,19	1,29±0,19	1,29±0,19
Índice de gordura visceral ² (%)	1,78±0,59	1,78±0,59	1,97±0,59
		45 dias	
Peso (g)	707,89±57,87 ^{ab}	749,51±25,21 ^a	697,19±62,35 ^b
Comprimento padrão (cm)	32,09±1,36	32,40±0,75	31,40±1,19
Comprimento total (cm)	37,52±1,43	37,77±0,89	37,19±1,22
Fator de condição	1,33±0,42	1,40±0,34	1,34±0,34
Índice gonadossomático (%)	9,27±2,46 ^b	16,77±5,16 ^{ab}	27,07±17,8 ^{ab}
Índice hepatossomático (%)	12,76±2,33	12,21±0,76	12,23±2,18
Índice de gordura visceral (%)	13,75±4,37 ^b	22,03±4,48 ^a	24,34±3,19 ^a
		90 dias	
Peso (g)	827,22±89,93 ^b	945,94±91,28 ^a	845,31±63,76 ^a
Comprimento padrão (cm)	32,36±1,38	32,48±1,19	31,79±1,22
Comprimento total (cm)	38,49±1,19	39,06±0,96	38,19±0,95
Fator de condição	1,44±0,24	1,59±0,34	1,50±0,35
Índice gonadossomático (%)	15,19±2,82	13,18±2,58	11,40±2,91
Índice hepatossomático (%)	8,16±2,34	6,44±0,86	8,23±2,81
Índice de gordura visceral (%)	4,19±1,59 ^c	8,12±1,19 ^b	12,24±1,66 ^a

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de na dieta.

Valores expressos em média ± erro padrão.

Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

²Valores obtidos a partir de abate inicial de 18 fêmeas de jundiá do mesmo lote daquelas utilizadas no experimento.

5.3.2 Parâmetros bioquímicos das fêmeas

A concentração plasmática de testosterona (T) não mostrou diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$). Porém, considerando-se o período verificou-se um aumento progressivo que variaram de 0,60 ng L⁻¹ iniciais, até os 45 dias experimentais para

41,70 e 57,30 ng mL⁻¹ e posteriormente, decrescendo até o final do período alimentar para 29,40 e 36,02 ng mL⁻¹ respectivamente (P<0,05) (Figura 13).

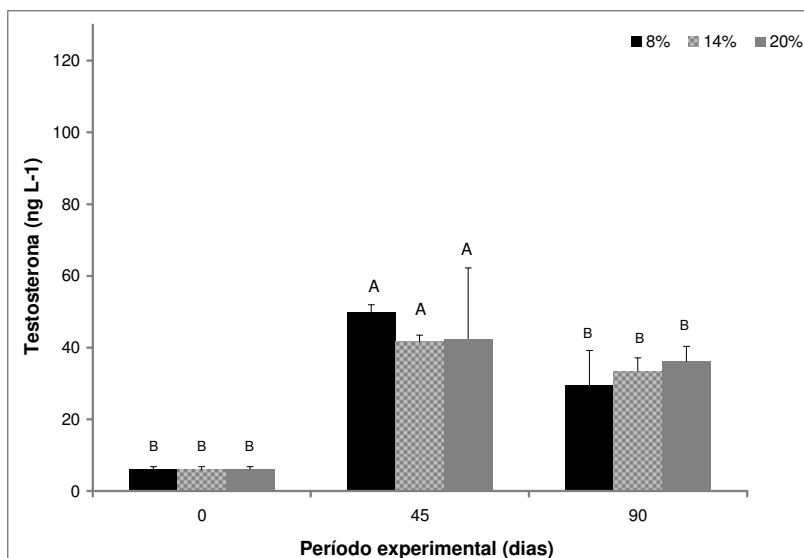


Figura 13 - Testosterona plasmática (T) em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o nível de lipídio na dieta pelo teste de Duncan (P<0,05); Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan (P<0,05).

Os níveis de 17β-estradiol plasmático (E₂) não se mostraram diferentes entre os tratamentos, decorrentes dos percentuais de lipídio nas dietas (Figura 14), porém verificou-se um aumento progressivo destes níveis que variaram de 0,58 ng L⁻¹ iniciais, para 3,53 e 3,60 ng L⁻¹, indicando uma vitelogênese intermediária aos 45 dias e 5,38 e 7,55 ng L⁻¹ e uma vitelogênese plena aos 90 dias (P<0,05).

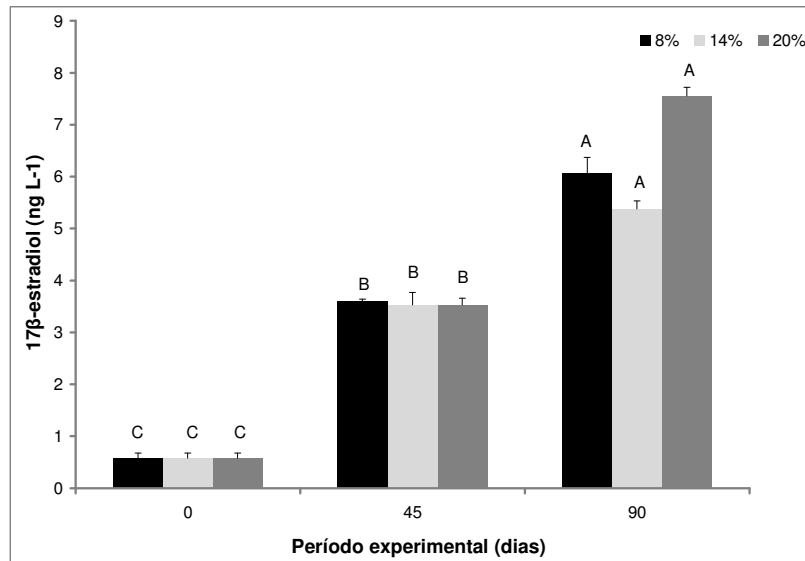


Figura 14 - 17β -estradiol plasmático (E_2) em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o nível de lipídio na dieta pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

A proteína plasmática total (PPT) aos 45 dias foi inferior no tratamento L8 (4,51 UI L⁻¹) em comparação à L14 (5,11 UI L⁻¹) e não diferiu de L20 (4,81 UI L⁻¹). Ao final (90 dias) a PPT circulante foi semelhante para as três dietas. Quando considerado o período alimentar houve aumento da PPT até os 45 dias e declinando próximo às taxas iniciais até os 90 dias (Figura 15).

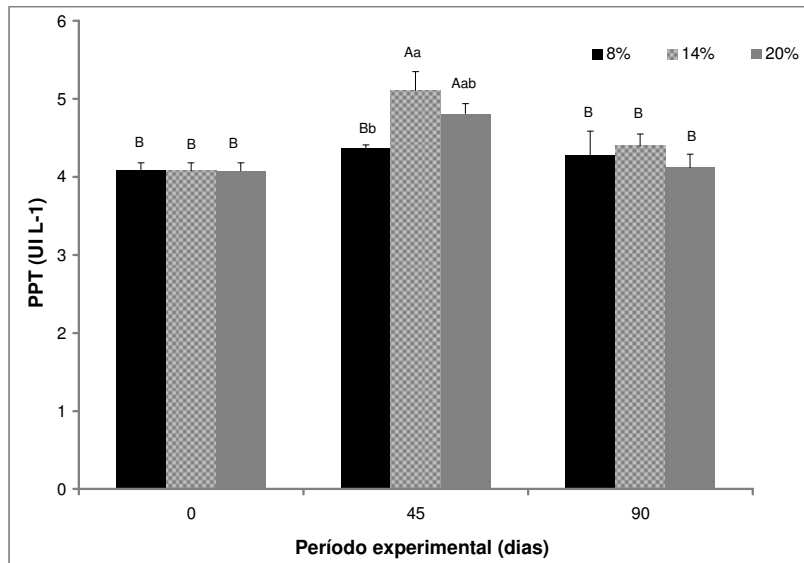


Figura 15 - Proteína plasmática total (PPT (UI L⁻¹)) em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá, nos períodos inicial (dia zero), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan (P<0,05); Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan (P<0,05).

Aos 45 dias experimentais houve aumento significativo dos valores de triglicerídeos plasmáticos (TG) nos tratamentos L14 e L20 (Figura 9), porém no período final (90 dias), o valor foi menor para o tratamento L20 que não diferiu de L14. Pode ser observado também, que no período experimental para todos os tratamentos houve elevação dos valores de TG circulantes até a fase intermediária (45 dias) e um declínio ao final (90 dias) para L14 e L20 (P<0,05).

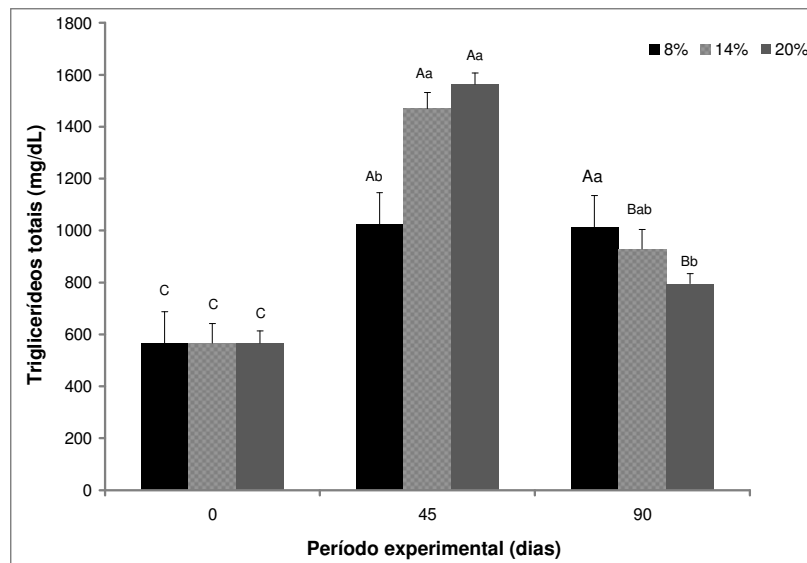


Figura 16 - Triglicerídeos plasmáticos (mg dL^{-1}), em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Os aminoácidos livres no plasma (Figura 17), foram similares nos diferentes tratamentos ($P > 0,05$). No entanto, para o período experimental houve aumento destes metabólitos nas fases intermediária (45 dias) para 28,52; 27,73 e 28,0 mg dL^{-1} respectivamente e no final (90 dias) para 26,38, 26,39 e 26,53 mg dL^{-1} , respectivamente ($P < 0,05$).

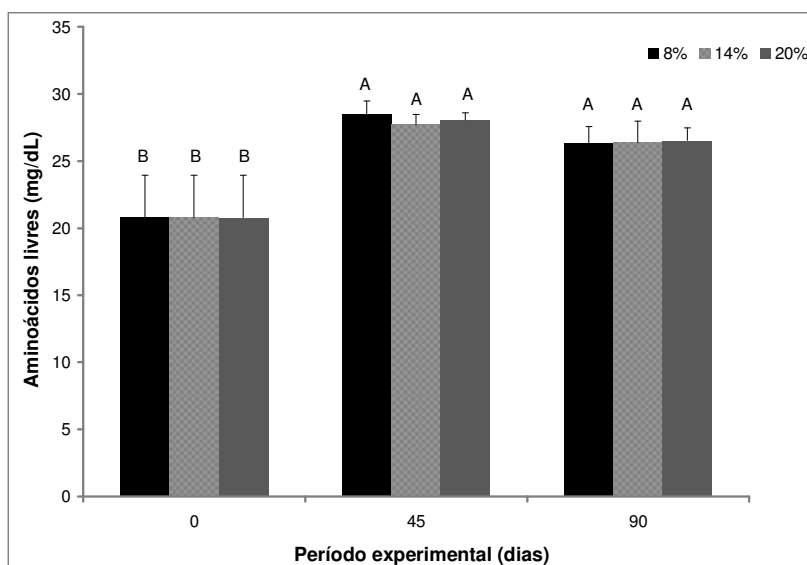


Figura 17 - Aminoácidos livres (mg dL^{-1}), em resposta aos níveis de lipídio nas dietas de jundiá nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o nível de lipídio na dieta pelo teste de Duncan ($P > 0,05$); Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Na Figura 18, são mostrados os resultados dos aminoácidos totais dos ovários. Não foi verificado efeito dos níveis de lipídio testados nas dietas ($P > 0,05$). Porém, houve incremento significativo de aminoácidos totais nos períodos entre 45 dias e ao final do estágio de maturação gonadal (90 dias).

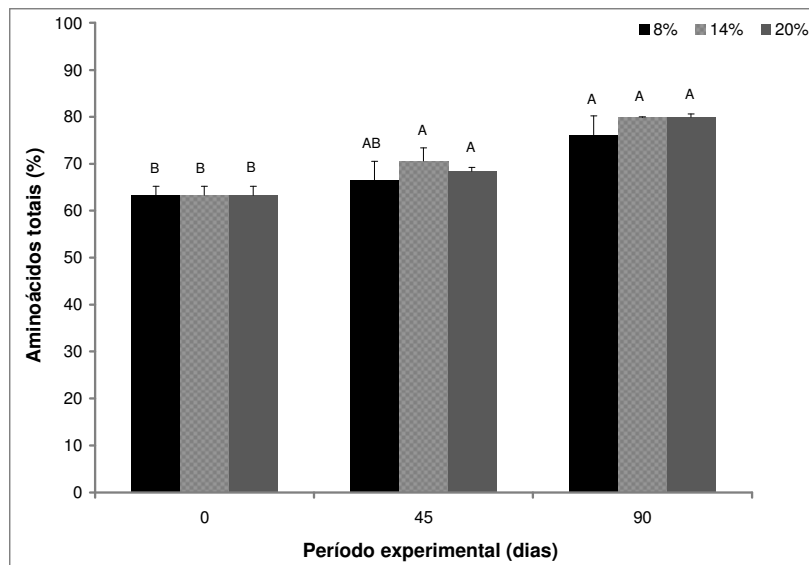


Figura 18 - Aminoácidos totais dos ovários de matrizes de jundiá, em resposta aos níveis de lipídio nas dietas nos períodos inicial (dia 0), aos 45 dias e aos 90 dias experimentais. Letras maiúsculas na coluna indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos dentro do dia específico de coleta pelo teste de Duncan ($P > 0,05$).

5.3.3 Perfil lipídico dos ovários e músculo

Na Tabela 12, podemos observar a composição dos lipídios totais e ácidos graxos (AG) analisadas dos lipídios totais dos ovários. Considerando-se os AGs que tiveram comportamento semelhante, ficou evidente que o aumento do teor de lipídio na dieta diminuiu o percentual dos AG C16:0 (ácido palmítico) e C20:1n-9 (ácido oléico) nos lipídios dos ovários, com diferença significativa entre L8 e L20. Por outro lado a proporção dos AG C18:2n-6 (ácido linoléico) e C18:3n-3 (ácido linolênico) nos ovários foi aumentada a partir de 14 % de lipídio na dieta, enquanto a proporção do AG C18:3n-6 e o somatório de AG poliinsaturados e de AG n-6 foram aumentados apenas a partir de 20 % de lipídio, quando comparados aos peixes que receberam 8 % de lipídio na dieta.

Tabela 12 – Composição porcentual de ácidos graxos nos lipídios totais dos ovários de fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas, após 90 dias de tratamento.

Constituintes	Tratamentos (%)		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
Lipídios totais	13,55±0,76	14,36±0,79	14,23±0,77
Ácidos graxos ²			
C14:0	1,30±0,09	1,25±0,09	1,14±0,12
C16:0	22,51±0,34 ^a	21,81±0,46 ^{ab}	21,20±0,58 ^b
C16:1n-7	4,19±0,55	3,82±0,46	3,18±0,54
C18:0	13,24±0,46	13,74±0,63	13,48±0,55
C18:1n-9	21,83±0,70	20,81±0,51	20,47±0,60
C18:2n-6	10,33±0,64 ^b	11,91±0,48 ^a	13,11±0,60 ^a
C18:3n-6	1,41±0,20 ^b	1,44±0,19 ^b	2,48±0,60 ^a
C18:3n-3	0,37±0,04 ^b	0,46±0,03 ^a	0,50±0,03 ^a
C20:1n-9	0,88±0,04 ^a	0,85±0,05 ^{ab}	0,76±0,04 ^b
C20:2n-6	1,65±0,10	1,52±0,08	1,48±0,07
C20:3n-6	7,28±0,42	7,82±0,53	7,57±0,48
C20:4n-6	8,39±0,37	7,97±0,35	8,39±0,35
C20:5n-3	0,37±0,03	0,41±0,03	0,46±0,04
C22:6n-3	5,88±0,37	5,87±0,40	5,71±0,42
∑Saturados	37,42±0,36	37,07±0,44	36,19±0,45
∑Insaturados	62,58±0,36	62,93±0,44	63,81±0,45
∑Monoinsaturados	26,91±0,90	25,49±0,82	24,40±0,88
∑Poliinsaturados	35,68±0,97 ^b	37,44±0,81 ^{ab}	39,43±0,99 ^a
Insaturados/Saturados	1,67±0,03	1,70±0,03	1,77±0,03
∑n-3	6,62±0,41	6,78±0,40	6,70±0,38
∑n-6	29,06±0,83 ^b	30,67±0,84 ^{ab}	32,73±1,18 ^a
n-6/n-3	4,53±0,29	4,69±0,34	5,11±0,43

Valores expressos em média ± erro padrão.

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de lipídio na dieta.

²Os AGs C10:0, C12:0, C15:0, C17:0, C17:1, C20:0, C20:3n-3, C22:0 e C24:0 não foram detectados ou representam menos que 0,5% do total dos ácidos graxos.

Letras minúsculas na linha, indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan (P<0,05).

Na Tabela 13, encontram-se os resultados da composição dos lipídios totais e ácidos graxos (AG) analisados a partir do músculo dorsal das fêmeas de *R. quelen*. Os lipídios totais não diferiram entre os tratamentos (P>0,05) como verificado nos ovários, porém houve variação na deposição de ácidos graxos. Para os AG saturados C14:0 (ácido mirístico), C16:0 (ácido palmítico) e C18:0 (ácido esteárico) houve uma

diminuição destes AG com o aumento do teor de lipídio das dietas ($P < 0,05$). Os AG (AGMI) C16:1n-7 (ácido palmitoléico) igualmente foi superior em L8 comparando-se à L14 e L20. Para os demais grupos de AG não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os AGPI da família ômega-6, C18:2n-6 e C18:3n-6 (ácidos linolêicos) foram superiores em L14 e L20 comparados à L8. A soma dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados em L8 superou os valores de L14 e L20 ($P > 0,05$). A relação de deposição de AGI e AGPI foram superiores em L14 e L20 quando comparados à L8, enquanto os AGMI foi maior em L8 do que em L14 e L20. O somatório dos AGPI da família ômega-6 foram semelhantes em L14 e L20 e absolutamente maiores do que L8. A relação ômega-6/ômega-3 também foi superior ($P > 0,05$) em L14 e L20 comparada à L8.

Tabela 13 – Composição porcentual de ácidos graxos nos lipídios totais do músculo dorsal das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas, após 90 dias de tratamento.

Constituintes	Tratamentos ¹		
	L8%	L14%	L20%
Lipídios totais	39,53±1,81	41,62±2,11	41,72±1,93
Ácidos graxos ²			
C14:0	1,62±0,07 ^a	1,44±0,10 ^b	1,44±0,10 ^b
C16:0	24,62±0,38 ^a	23,25±0,60 ^b	22,89±0,67 ^b
C16:1n-7	6,97±0,41 ^a	6,09±0,62 ^b	6,15±0,57 ^b
C18:0	7,54±0,10 ^a	7,27±0,08 ^b	7,02±0,12 ^b
C18:1n-9	34,57±0,38 ^a	33,74±0,36 ^{ab}	33,24±0,34 ^b
C18:2n-6	17,37±0,49 ^b	20,29±1,23 ^a	21,26±1,43 ^a
C18:3n-6	0,85±0,10 ^b	1,34±0,18 ^a	1,44±0,20 ^a
C18:3n-3	1,02±0,03 ^b	1,27±0,09 ^a	1,36±0,11 ^a
C20:1n-9	0,87±0,09	0,85±0,02	0,81±0,03
C20:2n-6	0,59±0,03	0,55±0,03	0,54±0,03
C20:3n-6	1,21±0,07	1,35±0,08	1,26±0,06
C20:4n-6	0,76±0,04	0,75±0,04	0,72±0,05
C20:5n-3	0,15±0,02	0,14±0,03	0,17±0,03
C22:6n-3	1,22±0,06	1,13±0,09	1,10±0,08
∑saturados	34,25±0,39 ^a	32,37±0,75 ^b	31,81±0,87 ^b
∑Insaturados	65,75±0,39 ^b	67,63±0,75 ^a	68,19±0,87 ^a
∑Monoinsaturados	42,52±0,39 ^a	40,75±0,87 ^b	40,29±0,88 ^b
∑Poliinsaturados	23,23±0,62 ^b	26,87±1,56 ^a	27,89±1,73 ^a
Insaturados/Saturados	1,92±0,03 ^b	2,10±0,07 ^a	2,17±0,09 ^a
∑n-3	2,45±0,09	2,59±0,12	2,68±0,10
∑n-6	20,78±0,56 ^b	24,28±1,49 ^a	25,21±1,65 ^a
n-6/n-3	8,52±0,24 ^b	9,43±0,47 ^a	9,37±0,42 ^a

Valores expressos em média ± erro padrão.

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de lipídio na dieta.

²Os AGs C10:0, C12:0, C15:0, C17:0, C17:1, C20:0, C20:2, C20:3n3, C22:0 e C24:0 não foram detectados ou representam menos que 0,5% do total dos ácidos graxos.

Letras minúsculas na linha, indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan (P<0,05).

5.3.4 Avaliação histológica das gônadas (ovários)

As Figuras 19A, 19B, 19C e 19D correspondem às amostras de ovários coletadas no início do experimento (dia zero), as Figuras 20A, 20B, 20C e 20D

correspondem às amostras coletadas no período intermediário (45 dias) e as Figuras 21A, 21B, 21C, 21D e 22 correspondem às amostras coletadas no período final (90 dias). Através das setas indicadoras, podem ser visualizados os estádios das células ovocitárias amostradas nos respectivos períodos experimentais. Nas Figuras 19A, 20A e 21A, podem ser observados ovócitos jovens ou cromatino-nucleares no estágio I, constituindo-se nas menores células encontradas, com núcleo grande central, citoplasma basófilo com nucléolos periféricos e zona pelúcida não evidente. Nas Figuras 19B, 20B e 21B encontram-se ovócitos no estágio II, perinucleolares ou pré-vitelogênicos com citoplasma basófilo, finamente granular, presença de núcleo vitelínico com vários nucléolos periféricos e células foliculares pavimentosas e zona pelúcida delgada. Nas Figuras 19C, 20C e 21C podem ser observados ovócitos no estágio III, com alvéolos-corticais e núcleo central levemente basófilo com contorno irregular, citoplasma acidófilo na periferia com aparecimento de vesículas claras (alvéolo-cortical). As células foliculares tornam-se cúbicas e a zona pelúcida permanece delgada. Nas Figuras 19D, 20D e 21D observam-se ovócitos vitelogênicos no estágio IV, com a presença de envoltório folicular e delgada camada de alvéolos corticais. Núcleo menor que os anteriores com nucléolos aleatórios. Possuem grânulos de vitelo em forma esférica de tamanhos variados. Na Figura 22, aparece um ovócito atrésico no estágio V, que perdeu sua forma arredondada típica e apresenta zona radiata fragmentada e grânulos de vitelo desorganizado.

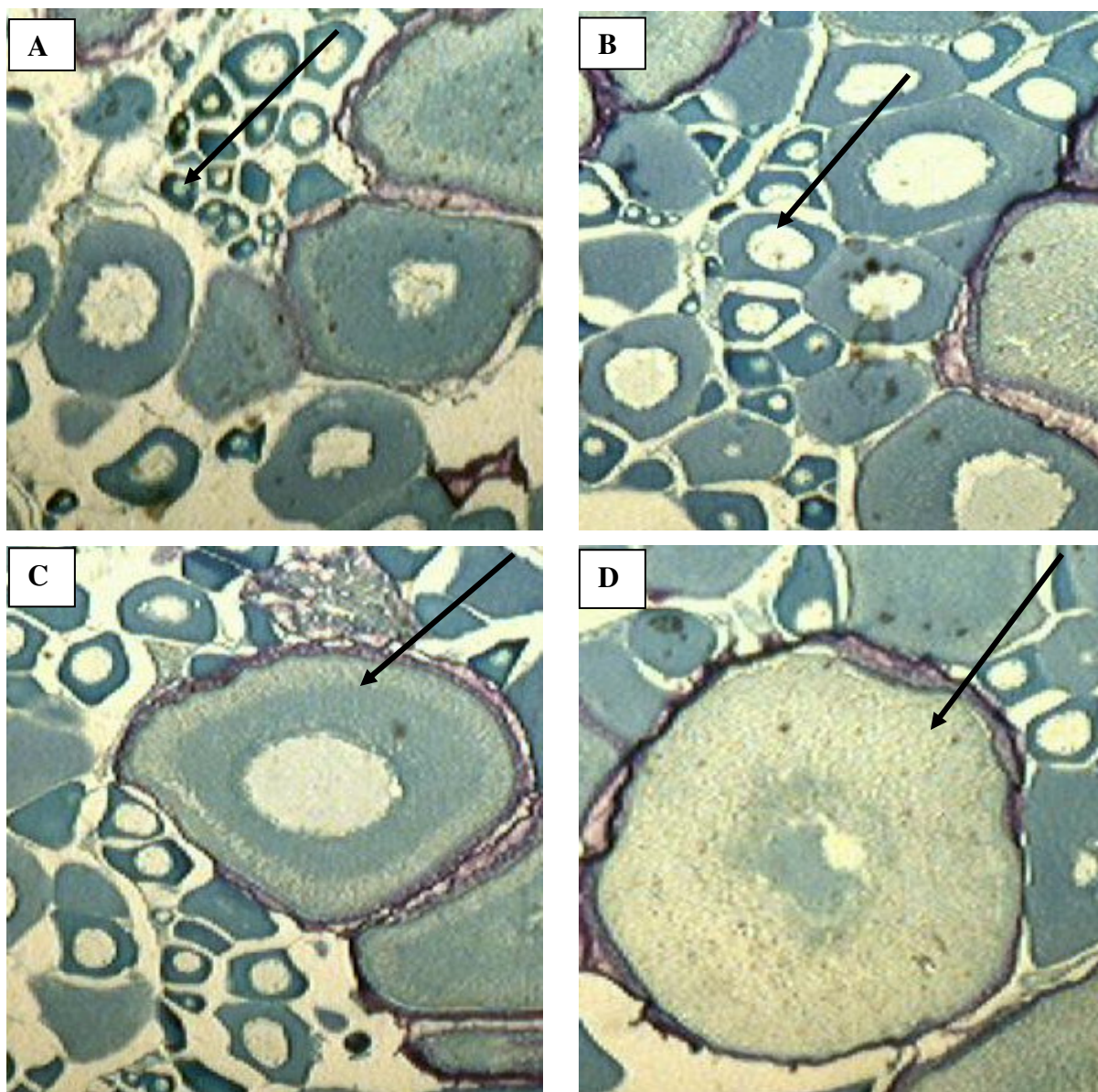


Figura 19 - Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas) observados no início do experimento II (dia zero): A) Ovócito cromatino nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Azul de toluidina; aumento 40x.

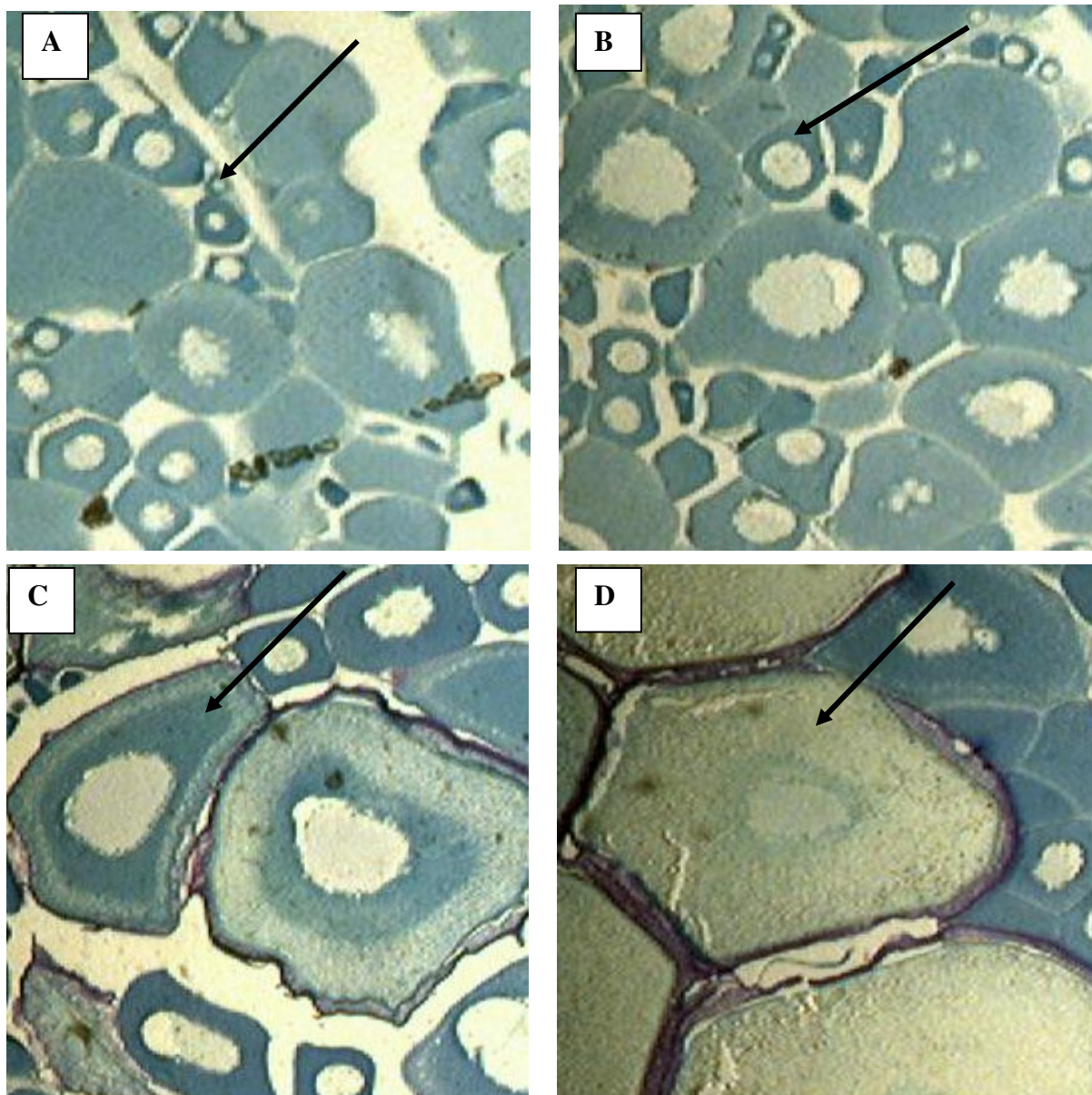


Figura 20 - Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas) aos 45 dias experimentais: A) Ovócito cromatino nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Azul de toluidina; aumento 40x.

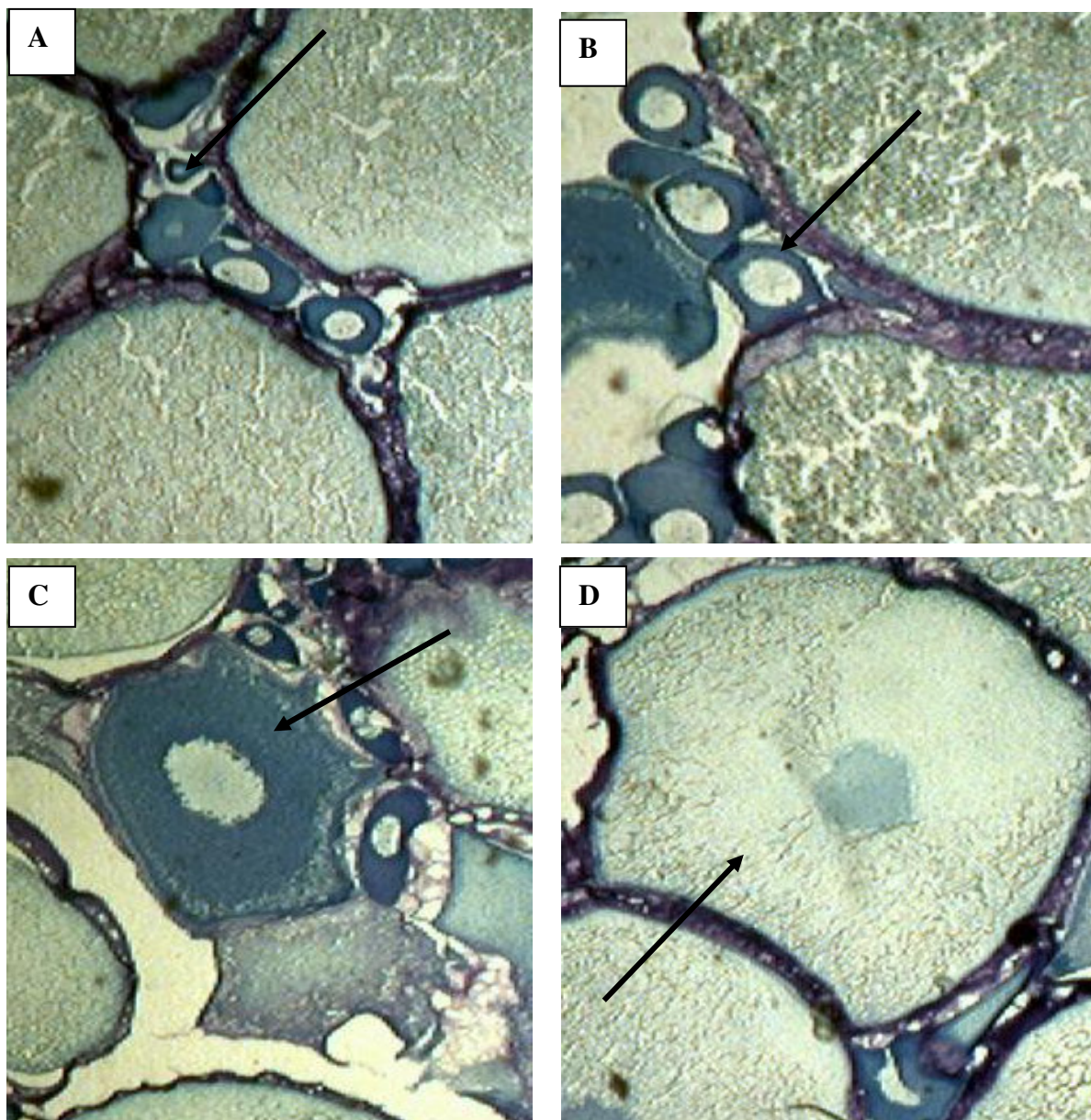


Figura 21 - Cortes de ovário de jundiá, em vários estádios de desenvolvimento (setas) ao final do experimento II (90 dias), observado nos tratamentos L8 e L20: A) Ovócito cromatino nucleolar (estádio I); B) Ovócito perinucleolar (estádio II); C) Ovócito alvéolo cortical (estádio III); D) Ovócito vitelogênico (estádio IV). Coloração: Azul de toluidina; aumento 40x.

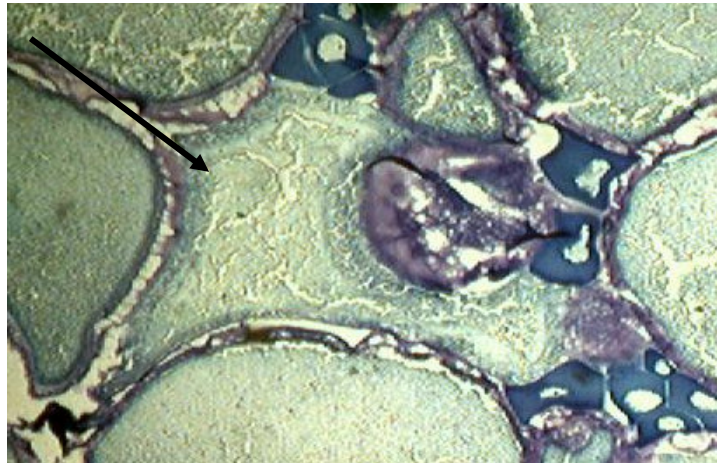


Figura 22 - Corte de ovário de jundiá, no estágio V (atrésico) observado ao final do experimento II (90 dias); Coloração: Azul de toluidina; aumento 40x.

No início do experimento (dia zero), foram analisados os ovários de cinco fêmeas e encontrados ovócitos nos estádios I, II e III em todas as fêmeas e em apenas uma foram encontrados alguns ovócitos no estágio IV. Aos 45 dias foram coletados ovócitos de três fêmeas por tratamento e houve predomínio dos estádios I, II e III, apenas os tratamentos L8 e L20 apresentaram alguns ovócitos no estágio IV. Ao final do experimento (90 dias) das seis fêmeas analisadas (duas por tratamento), foram encontrados ovócitos em todos os estádios nos três tratamentos. Nos tratamentos L8 e L20 foram encontrados dois ovócitos no estágio V (atrésico), correspondendo à L8 e L20 respectivamente (Anexo 2).

5.3.5 Desempenho reprodutivo das fêmeas

O nível de lipídio nas dietas influenciou o comportamento reprodutivo das fêmeas utilizadas para a desova. Das quatro fêmeas induzidas por tratamento, a melhor taxa de desova foi obtida com o nível de 8 % de lipídio, representando 75 %, enquanto para os

níveis de 14 e 20 % ocorreram duas desovas representando 50 % e 50 % respectivamente.

Para taxa de fecundidade, peso do ovo hidratado, número de ovos por kg de fêmea, número de ovos hidratados por mL de desova, não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) (Tabela 14).

Tabela 14 – Taxa de fecundidade, peso do ovo, número de ovos kg de fêmea e número de ovos hidratados por mL de desova de fêmeas de jundiá, em resposta aos níveis de lipídio na dieta.

Variáveis	Tratamentos		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
Taxa de fecundidade ²	82,8±13,29	88,22±6,7	71,21±15,59
Peso do ovo (mg) ³	4,33±0,01	3,59±0,01	3,47±0,02
Número de ovos kg ⁻¹ de fêmea	69.055±15548,5	63.421±21947,4	41.436±4.672,7
Número ovos mL ⁻¹ de desova	52,00±5,29	57,00±3,61	65,67±10,52

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de lipídio na dieta.

Valores expressos em média ± erro padrão.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($P>0,05$).

²Média de cinco coletas realizadas à zero hora (=3 horas), seis, 12, 18 e 24 horas após a desova.

³Média das coletas realizadas à zero hora (=3 horas), após a desova.

Para as medidas morfométricas de área e diâmetro do ovo, o tratamento L8 apresentou valores superiores ao tratamento L20 em todos os intervalos de coleta, não diferindo de L14, com exceção das coletas de 12 e 18 horas para área do ovo e 12 horas para diâmetro do ovo. Para o comprimento das larvas, na hora zero, os tratamentos L8 e L14 foram superiores ao tratamento L20. Na hora 48, também para comprimento das larvas, o tratamento L14 foi superior ao tratamento L20, o qual não diferiu do tratamento L8. Para o diâmetro do saco vitelínico L8 foi superior aos demais e L14 inferior à L20. A área do saco vitelínico não apresentou diferença significativa entre os tratamentos em todos os horários coletados (Tabela 15).

Tabela 15 – Medidas morfométricas de ovos e larvas obtidos de fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio na dieta.

Períodos	Tratamentos		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
Área do ovo (mm ²)			
Hora 0	1,47±0,05 ^a	1,43±0,03 ^{ab}	1,38±0,05 ^b
Hora 6	1,54±0,06 ^a	1,50±0,01 ^{ab}	1,44±0,01 ^b
Hora 12	1,72±0,06 ^a	1,60±0,02 ^b	1,58±0,02 ^b
Hora 18	1,85±0,02 ^a	1,71±0,03 ^b	1,69±0,02 ^b
Hora 24	1,96±0,01 ^a	1,86±0,03 ^{ab}	1,79±0,03 ^b
Diâmetro do ovo (mm)			
Hora 0	1,36±0,01 ^a	1,34±0,02 ^{ab}	1,32±0,01 ^b
Hora 6	1,42±0,02 ^a	1,39±0,08 ^{ab}	1,35±0,03 ^b
Hora 12	1,65±0,04 ^a	1,46±0,01 ^b	1,44±0,02 ^b
Hora 18	1,69±0,04 ^a	1,67±0,03 ^{ab}	1,54±0,05 ^b
Hora 24	1,89±0,12 ^{ab}	1,92±0,02 ^a	1,77±0,01 ^b
Comprimento da larva (mm)			
Hora 0	2,46±0,9 ^a	2,51±0,04 ^a	2,29±0,01 ^b
Hora 12	2,51±0,05	2,55±0,11	2,50±0,04
Hora 24	3,02±0,02	3,11±0,06	2,97±0,04
Hora 36	3,81±0,01	3,88±0,02	3,80±0,06
Hora 48	4,85±0,03 ^{ab}	4,96±0,06 ^a	4,84±0,05 ^b
Diâmetro do saco vitelínico (mm)			
Hora 0	0,74±0,03	0,73±0,02	0,72±0,02
Hora 12	0,65±0,02	0,68±0,01	0,62±0,05
Hora 24	0,59±0,01	0,56±0,01	0,55±0,03
Hora 36	0,54±0,05	0,43±0,01	0,54±0,04
Hora 48	0,50±0,01 ^a	0,25±0,03 ^c	0,41±0,05 ^b
Área do saco vitelínico (mm ²)			
Hora 0	0,42±0,06	0,43±0,04	0,41±0,03
Hora 12	0,36±0,05	0,39±0,03	0,35±0,04
Hora 24	0,35±0,04	0,29±0,04	0,34±0,02
Hora 36	0,32±0,05	0,28±0,06	0,30±0,05
Hora 48	0,16±0,02	0,14±0,05	0,14±0,02

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de lipídio na dieta.

Valores expressos em média ± erro padrão.

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, diferem estatisticamente pela análise de Kruskal-Wallis (P<0,05).

5.3.6 Crescimento das pós-larvas provenientes das matrizes alimentadas com diferentes níveis de lipídio nas dietas

Os pesos iniciais e comprimento total das pós-larvas oriundas dos tratamentos L8, L14 e L20 foram de $1,10 \pm 0,04$ mg; $0,95 \pm 0,0$ mg e $1,25 \pm 0,1$ mg e $5,68 \pm 0,45$ cm, $5,83 \pm 0,31$ cm e $5,76 \pm 0,36$ cm, respectivamente, onde a dieta L20 apresentou maior peso ($P < 0,05$). Aos sete dias não foram observadas diferenças para PM, porém as variáveis CT e CP foram superiores em L8 e L20, enquanto a TCE foi inferior no tratamento L20 ($P < 0,05$). Aos 14 dias as dietas L8 (PM= $12,54 \pm 3,82$ mg, CT= $10,82 \pm 1,03$ cm, e TCE: $17,34 \pm 0,52$) e L14 (PM= $10,98 \pm 5,10$ mg, CT= $10,34 \pm 1,35$ cm, e TCE= $17,10 \pm 0,61$) foram superiores à dieta com maior nível de lipídio L20 (PM= $7,77 \pm 3,83$ mg; CT= $9,52 \pm 1,28$ mm, e TCE= $13,06 \pm 0,62$) ($P < 0,05$). A sobrevivência (SOB) das pós-larvas do tratamento L8 (81,88 %) diferiu do L20 (69%) (Tabela 16).

Tabela 16 – Desempenho zootécnico das pós-larvas de jundiá, provenientes de matrizes alimentadas com 8, 14 e 20 % de lipídio total na dieta.

Variáveis	Tratamentos		
	L8 ¹	L14 ¹	L20 ¹
	Inicial		
Peso médio (mg) ²	$1,10 \pm 0,02^b$	$0,95 \pm 0,01^c$	$1,25 \pm 0,03^a$
Comprimento total (mm) ²	$5,68 \pm 0,02$	$5,83 \pm 0,04$	$5,76 \pm 0,03$
	7 dias		
Peso médio (mg) ³	$2,97 \pm 0,19$	$2,95 \pm 0,08$	$3,05 \pm 0,12$
Comprimento total (mm) ³	$7,60 \pm 0,03^{ab}$	$7,36 \pm 0,08^b$	$7,85 \pm 0,25^a$
Taxa de crescimento específico (%/dia) ³	$6,79 \pm 0,96^{ab}$	$6,63 \pm 0,12^b$	$7,00 \pm 0,2^a$
Fator de condição ³	$14,4 \pm 0,03^{ab}$	$15,94 \pm 0,03^a$	$12,60 \pm 0,04^b$
	14 dias		
Peso médio (mg) ³	$12,54 \pm 1,06^a$	$10,98 \pm 0,98^a$	$7,77 \pm 0,77^b$
Comprimento total (mm) ³	$10,82 \pm 0,05^a$	$10,34 \pm 0,09^a$	$9,52 \pm 0,56^b$
Taxa de crescimento específico (%/dia) ³	$9,42 \pm 0,76^a$	$8,98 \pm 0,96^a$	$8,29 \pm 0,82^b$
Fator de condição ³	$17,34 \pm 0,04^a$	$17,10 \pm 0,07^a$	$13,06 \pm 0,03^b$
Sobrevivência (%) ³	$81,88 \pm 3,42^a$	$79,37 \pm 3,1^{ab}$	$69,00 \pm 3,26^b$
Peso versus sobrevivência ³	$998,7 \pm 97,1^a$	$869,9 \pm 48,2^a$	$534,1 \pm 27,6^b$

Valores expressos em média \pm erro padrão.

¹L8=8 % de lipídio na dieta; L14=14 % de lipídio na dieta; L20=20 % de lipídio na dieta.

²Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pela análise não paramétrica de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

³Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os dias de coleta dentro do tratamento específico pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

5.4 Discussão

Observou-se neste estudo, que as fêmeas alimentadas com o maior nível de lipídio na dieta obtiveram maior crescimento em peso ao final do período alimentar, no entanto as variáveis comprimento total e padrão, fator de condição (FC), índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) foram similares e para o índice de gordura visceral (IGV) houve maior deposição de gordura para os níveis de 14 e 20 % de lipídio nas dietas. Ling et al. (2006), encontraram resultados semelhantes em peso, quando trabalharam com níveis de lipídio entre 8 e 20 % e proteína entre 20 e 30 % para fêmeas reprodutoras de “swordtails” *Xiphophorus helleri* e obtiveram maior peso para as dietas contendo entre 8 e 20 % de lipídio e 30 % de PB, porém ao contrário do presente trabalho, para FC, IGS, IHS e IGV, houve aumento desses índices com os mesmos níveis de lipídio e PB nas dietas. O aumento de lipídios na ração provoca aumento no peso das vísceras e tendem a diminuir o rendimento de carcaça (Mathis et al., 2003) e Jobling et al. (1998), reforçam que peixes com maior idade e tamanho corporal tendem a depositar mais lipídios. Du et al. (2005) argumentaram que dependendo da quantidade de nutrientes e balanceamento da dieta, o peixe deposita o excesso de energia da dieta na forma de gordura visceral. Esses autores corroboram com os resultados de IGV obtidos neste estudo, onde houve aumento linear deste índice com o aumento do teor de lipídio da dieta ao final do período alimentar (90 dias).

Nas espécies de bagres, ocorrem alterações na fisiologia reprodutiva e estão associadas a mudanças nos níveis de esteróides no plasma (Singh & Singh, 1987) e são usados como indicadores da atividade esteroidogênica durante o desenvolvimento e maturação do oócito (Barrero et al., 2007). Os valores de T não foram significativamente diferentes entre os tratamentos, porém houve progressão dos valores até os 45 dias experimentais e posterior diminuição até o final do período alimentar. Resultados semelhantes foram encontrados para a mesma espécie por Barcellos et al. (2001), quando as fêmeas apresentaram 15,1 ng mL⁻¹ na fase pré-vitelogênica, 53,5 ng mL⁻¹ na fase de vitelogênese inicial e 22,5 ng mL⁻¹ na fase de vitelogênese final. Mori et al (2003) obtiveram para *Sebastes schlegeli* um pico de concentração plasmática de T,

um mês antes do declínio de E_2 , esses resultados estão próximos aos encontrados neste trabalho para o jundiá. Em outro estudo realizado por Guzmán et al. (2008), com fêmeas de “senegalese sole” *Solea senegalensis* o padrão de T e E_2 aumentou paralelamente à vitelogenina, porém observaram concentração máxima no período pré-desova, diminuindo posteriormente. Esses autores reforçam que embora ambos os esteróides tenham aumentado concomitantemente durante o período pré-desova, T atingiu o pico um mês mais cedo do que o E_2 .

A concentração plasmática de E_2 aumenta gradualmente durante a vitelogênese até pouco antes do pico de maturação dos oócitos e caem rapidamente durante a desova (Mori et al., 2003) o que sugere ser o mesmo padrão para o jundiá. Neste trabalho, os resultados de E_2 não se mostraram diferentes entre os tratamentos, no entanto apresentou aumento linear entre os períodos avaliados. Estes resultados são corroborados por Barcellos et al. (2001), que obtiveram para a mesma espécie e período reprodutivo (outubro), concentrações de 0,90; 2,65 e 9,10 E_2 (ng mL⁻¹), indicando uma vitelogênese final.

Os resultados obtidos nos dois experimentos são consistentes aos realizados pelos autores mencionados e estabelecem um padrão hormonal de T e E_2 para o jundiá *R. quelen* independentemente do nível de proteína e lipídio utilizado na dieta.

A proteína plasmática total (PPT) foi menor durante a primeira fase de alimentação (45 dias) em L14, voltando a apresentar um padrão semelhante entre os tratamentos ao final (90 dias). Quando considerado o período alimentar houve aumento da proteína circulante aos 45 dias e declinando para as taxas iniciais aos 90 dias, evidenciando claramente que houve aproveitamento de lipídio para formação de reserva vitelogênica. Barcellos et al. (2003), encontraram níveis entre 4,06 a 7,06 mg dL⁻¹ de PPT em fêmeas adultas de jundiá e Borges et al. (2004), obtiveram níveis entre 3,5 e 4,9 mg dL⁻¹ em jundiás adultos. Os resultados obtidos por esses autores são semelhantes aos obtidos neste estudo.

Os triglicerídeos são utilizados para satisfazer a demanda de energia dos peixes (Rainuzzo et al., 1997). Com o aumento do nível de lipídio nas dietas os valores TG no plasma diferiram entre os tratamentos, sendo maiores em L14 e L20 até a fase intermediária (45 dias). Ao final (90 dias) houve declínio destes valores, com nível

menor para L20. Pode ser observado também, que no período experimental para todos os tratamentos, houve elevação dos triglicerídeos circulantes até a fase intermediária (45 dias) e uma acentuada diminuição dos valores ao final para os tratamentos L14 e L20 (90 dias). Borges et al. (2004), trabalharam com jundiás adultos alimentados com ração comercial e obtiveram níveis de TG inferiores aos obtidos neste trabalho quando registraram variação entre 138 e 146 mg dL⁻¹.

Os aminoácidos livres (AAL) no plasma se mantiveram em valores aproximados entre os tratamentos. No entanto, no período experimental, os resultados se mostraram mais elevados nas fases intermediária e final.

Para aminoácidos totais (AAT) nos ovários, os resultados foram similares nas dietas com níveis crescentes de lipídio. Porém, no período (45 dias aos 90 dias) houve maior deposição de AAT dentro de cada tratamento específico. Esses resultados são explicados por Silva et al. (2004) e Khan et al. (2005), que argumentam que ocorre deposição de nutrientes para a formação do saco vitelínico e estes são responsáveis pela alimentação endógena até a ingestão de alimento exógeno.

A composição dos ácidos graxos dos tecidos e dos ovos dos peixes reflete o índice de ácidos graxos supridos na dieta dos reprodutores (Fernández-Palacios, 1997; Corraze, 2001) e desempenha um papel central no metabolismo embrionário uma vez que os ácidos graxos constituem importante fonte de energia para formação de células, tecidos e membranas (Sargent, et al. 2002). No presente trabalho os lipídios totais não diferiram entre os tratamentos, porém houve variação na composição de ácidos graxos dos ovários e músculo do jundiá. Resultados semelhantes foram relatados por Druzian et al. (2007), quando analisaram o perfil de ácidos graxos do músculo de carpa *C. carpio* alimentadas com ração, comparadas às alimentadas com dejetos suínos. Nos ovários, em L8, o AG C16:0 foi superior à L20 enquanto para a mesma dieta houve menor deposição de C18:2n-6 comparada à L14 e L20. No músculo, também houve aumento significativo para o grupo da série n-6 no tratamento com nível mais alto de incorporação de lipídio (L20), estes resultados estão de acordo com Regost et al. (2003) em estudo com “turbot” *Psetta maxima*, substituindo óleo de peixe por óleo de soja ou óleo de linhaça, observaram que os animais alimentados com óleo de soja apresentaram maior teor de C18:2n-6 e os peixes que receberam ração com óleo de

linhaça apresentaram níveis mais elevados de C18:3n-3. A relação de AG n6:n-3 para o músculo foi normal quando comparada a outras espécies de água doce criadas em cativeiro como tambaqui (Maia & Rodriguez-Amaya, 1992) e matrinxã (Martino et al., 2001).

As espécies de água doce podem converter os AG por alongação e reações de dessaturação dos carbonos a partir de seus precursores (Moreira et al., 2001; Zheng et al., 2004) e produzir ácidos graxos altamente insaturados (Sargent et al., 1999). O jundiá possui capacidade de alongar e dessaturar os AG providos nas dietas como observado neste estudo. A seguir podemos verificar os AG presentes nos ovários e músculos a partir de seus precursores das séries oléica, linoléica e linolênica presentes nas dietas:

Série oléica (n-9): 18:1n-9→20:1n-9;

Série linoléica (n-6): 18:2n-6→18:3n-6→20:2n-6→20:3n-6→20:4n-6;

Série linolênica (n-3): 18:3n-3→20:5n-3→22:6n-3.

Os AG intermediários estavam presentes em pequenas proporções ou não foram encontrados.

Embora a necessidade de AG da série linolênica ser menor que os da série linoléica para os peixes de água doce (Steffens, 1987; Sargent et al., 2002), observou-se neste estudo, que ocorreu um maior metabolismo celular para produção de n-3 do que n-6 nos ovários quando em comparação à concentração destes AGs essenciais das dietas, indicando que os AG n-3 desempenham um papel significativo na gametogênese do jundiá. Sargent et al. (2002), asseguram que EPA e DHA além de fornecer energia são os principais AG constituintes das membranas das células de peixes em geral.

Morehead et al. (2001), argumentaram que a composição bioquímica dos ovos é frequentemente utilizada como um indicador de qualidade do ovo, mas a relação entre a composição bioquímica e qualidade dos ovos é de difícil interpretação. Sink & Lochmann (2008), demonstraram que para bagre de canal *I. punctatus*, dietas com cerca de 12 % (10 % suplementar) de lipídio melhorou numerosas características reprodutivas, independentemente da fonte de lipídio, em comparação a um controle de 6 % (4 % suplementar) de lipídio. Considerando o estudo destes autores, tendo em

vista a semelhança nos hábitos alimentares entre o jundiá e o bagre de canal, fica evidenciado que dietas contendo entre 8 e 14 % de lipídio total são recomendadas para um bom desempenho reprodutivo do jundiá.

O desenvolvimento dos estágios ovocitários do jundiá não foi influenciado pelo nível de lipídio na ração. No entanto esta espécie apresenta um padrão de desenvolvimento assincrônico dos ovócitos, apresentando em nosso estudo ovócitos em vários estádios de amadurecimento, sendo mais intenso o estágio IV ao final do experimento (15 de outubro), esses resultados são corroborados por Gomes et al. (2000) e Ghiraldelli et al. (2007) que destacam que em peixes de desova parcelada os ovócitos amadurecem em lotes e são eliminados em intervalos regulares, durante todo o ano ou parte dele. A atresia folicular ocorreu em duas fêmeas onde foram encontrados apenas dois ovócitos ao final do período experimental, sendo um em L8 e um em L20 o que de acordo com Ganeco et al. (2001), pode ocorrer normalmente antes da desova nos ovócitos que não alcançaram a maturidade e, após a desova, naqueles que deixaram de ser eliminados.

O comportamento reprodutivo das fêmeas utilizadas para a desova foi influenciado pelo nível de lipídio nas dietas. Das 12 fêmeas induzidas por tratamento, a melhor taxa de desova foi obtida em L8 (75 %), enquanto para L14 e L20 foram de 50 %, com média entre os tratamentos de 58,3 %. O sucesso das desovas foram superiores às obtidas por Sink et al. (2010) quando testaram as interações entre fontes de proteína e lipídio em dietas para bagre de canal *I. punctatus* contendo 35 % de PB e 12 % de lipídio total e obtiveram resultados entre 33 e 58 % e desova média entre os tratamentos de 51,2 %. No segundo experimento houve um menor desempenho reprodutivo quando comparado ao primeiro, onde todas as fêmeas desovaram com a dieta contendo o mesmo nível de lipídio (14 %) e proteína (28 %). A temperatura da água pode ter influenciado no comportamento reprodutivo das fêmeas concorrendo para um menor índice de desova. A temperatura nos tanques-rede registrada às 16 horas foi de $18,4 \pm 2,8$ °C enquanto no experimento anterior, a temperatura média no mesmo horário situou-se em $20,3 \pm 2,8$ °C. Em outros peixes ósseos a temperatura e o fotoperíodo são os principais estímulos ambientais que regulam o recrudescimento gonadal e desova (Peter & Yu 1997; Olsen et al., 1999). Barcellos et al. (2001),

sugerem que esses fatores climáticos provavelmente influenciam a reprodução do jundiá, uma vez que os hormônios esteróides T e E₂ aumentam as concentrações com o aumento da temperatura e fotoperíodo.

Para Izquierdo et al. (2001), a fecundidade representa o total de número de ovos produzidos por cada peixe e é expressa em termos de número de ovos por desova ou pela relação quantidade de ovos por peso corporal. No presente trabalho, os níveis crescentes de lipídio na dieta não melhoraram a taxa de fecundidade, peso do ovo e número de ovos kg⁻¹ de fêmea. Estes resultados são corroborados por Sink et al. (2010) que também não encontraram diferença significativa para a taxa de fecundidade, peso dos ovos em massa, volume total de ovos em fêmeas de bagre de canal (*I. punctatus*) alimentadas com fontes protéicas contendo 35 % de PB e 12 % de lipídio total. Ballestrazzi et al. (2003), igualmente não verificaram efeito significativo para número total de ovos na desova e peso médio do ovo em truta arco íris (*O. mykiss*) quando usaram níveis crescentes de óleo de coco nas dietas.

Os níveis de lipídio das dietas L8 e L14 não diferiram entre si nas medidas morfométricas de ovos e larvas de jundiá, porém em L20, houve diminuição da área e diâmetro do ovo. Estes resultados podem ser comparados aos do experimento anterior onde o nível de proteína mais elevado (40 %), com o mesmo nível de lipídio (14%), resultou em menor área e diâmetro do ovo sugerindo que o excesso de proteína na dieta tenha induzido a uma gliconeogênese aumentando a gordura visceral em prejuízo do desenvolvimento do ovo, como também verificado neste estudo com o nível mais alto de lipídio (20 %).

Os lipídios (gorduras e ácidos graxos) são importantes componentes da dieta para os reprodutores de peixes (Izquierdo et al., 2001; Perez et al., 2007), no entanto o excesso de lipídios diminui o consumo voluntário de ração (Salhi et al., 2004) e pode ser prejudicial como mencionado por Ling et al. (2006) quando utilizaram dieta com 30 % PB e 20 % de lipídio, estes autores sugeriram que houve um desequilíbrio de ácidos graxos para manutenção adequada de crescimento e reprodução em “swordtails” *X. helleri*. Em nosso estudo, as fêmeas que receberam dieta com o maior teor de lipídio (L20) resultou em pós-larvas com menor peso final, comprimento total, taxa de crescimento específico, fator de condição, sobrevivência e peso versus sobrevivência,

ficando evidente que o excesso de lipídio prejudicou o desenvolvimento das pós-larvas. Resultados semelhantes foram obtidos por Zheng et al. (2010) que registraram melhor desempenho em crescimento e sobrevivência de larvas de “darkbarbel catfish” *Pelteobagrus vachelli* alimentadas até 20 dias após a abertura da boca, com dietas contendo entre 11,1 e 15,1 g de lipídio total kg^{-1} do que aquelas que receberam 5,8, 7,4 e 19,9 g kg^{-1} .

5.5 Conclusões

- Os maiores níveis de lipídios testados nas dietas aumentaram a gordura visceral das fêmeas;
- O perfil de ácidos graxos diferiu entre os tratamentos e houve variação na sua composição;
- O jundiá tem capacidade de alongar e dessaturar os ácidos graxos a partir de seus precursores;
- O aumento do nível de lipídio na dieta das fêmeas em até 20 % influenciou negativamente as medidas morfométricas de ovos e larvas de jundiá;
- O nível de lipídio mais elevado testado na dieta das fêmeas (20 %) prejudicou o crescimento e sobrevivência das pós-larvas de jundiá;

6 CONCLUSÕES GERAIS

- Os parâmetros bioquímicos das fêmeas de jundiá não foram alterados com os níveis protéicos e lipídicos das dietas;
- Os padrões bioquímicos do jundiá mostraram-se semelhantes entre os dois experimentos;
- As melhores respostas reprodutivas para fêmeas de jundiá foram obtidas com as dietas contendo 28 % de PB e entre 8 e 14 % de lipídio total;
- As pós-larvas resultaram em maior crescimento quando as matrizes foram alimentadas com níveis 28 % de PB e entre 8 e 14 % de lipídio total.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.332-342, 2010.

ABDEL-TAWWAB, M. et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.298, p.267-274, 2010.

BABIN, P.; CERDA, J.; LUBZENS, E. **The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications**, Second Ed. Springer, p.483, 2007.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 1^o ed. Santa Maria, RS: Editora da UFSM, p.211, 2002.

BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**, Editora UFSM, Santa Maria, p.67-72, 2004.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia* sp.) In: Baldisserotto, B. Gomes, L. C (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, p.303-325, 2005.

BALLESTRAZZI, R; et al. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v.11, p.289-299, 2003.

BARCELLOS, L.J.G. et al. Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, PiscesbTeleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, v.121, p.325-332, 2001.

BARCELLOS, L.J. G. et al. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, v.34, p.1465-1469, 2003.

BARRERO, M. et al. Comparison of estradiol, testosterone, vitellogenin and cathepsin profiles among young adult channel catfish (*Ictalurus punctatus*) females from four selectively bred strains. **Aquaculture**, v.264, p.390-397, 2007.

BENGSTON, D.A. Aquaculture of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): status of knowledge, current research and future research priorities. **Aquaculture**, v.176, p.39-49, 1999.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p.911-917, 1959.
BOCKMANN, F.A.; GUAZZELLI, G.M. Family Heptapteridae (Heptapterids). In: **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre EDIPUCRS, p.406-431, 2003.

BORGES, A. et al. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.30, p.21-25, 2004.

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

BOSSEMEYER, I.M.K.; HALL, G.A.B. Determinação da época de desova e maturação do jundiá *Rhamdia sapo*, baseado no IGS e em estudo morfofocitológico das gônadas. **Ciência e Natura** (2), p.133-151, 1980.

CHONG, A.S.C. et al. Effect of dietary level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). **Aquaculture**, v.234, p.381-392, 2004.

CERDÁ, J. et al. Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg and larval quality. **Aquaculture**, v.128, p.345-361, 1994.

COLDEBELLA, I. J.; RADÜNZ NETO J. Farelo de soja na alimentação de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.32, n.3, p.499-503, 2002.

CORRAZE, G. **Lipid nutrition**. In: GUILLAUME, J. et al. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer-Praxis, Chichester, UK, p.111-129, 2001.

COWARD, K. et al. PARRINGTON, J. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews Fish Biology and Fisheries**, v.12, p.33-58, 2002.

CREPALDI, D. V. et al. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.30, n.4, p.159-167, 2007.

DE SILVA, S.S.; NGUYEN, T.T.T.; INGRAM, B.A. Fish reproduction in relation to aquaculture. In: Rocha, M.J., Arukwe, A., Kapoor, B.G. **Fish Reproduction**, v.535-575, 2008.

DRUZIAN, J.I.; MARCHESI, C.M.; SCAMPARINI, A.R.P. Perfil de ácidos graxos e composição centesimal de carpas (*Cyprinus carpio*) alimentadas com ração e com dejetos suínos. **Ciência Rural**, v.37, n.2, p.539-544, 2007.

DU, Z-Y. et al. The influence of feeding rate on growth, feed efficiency and body composition of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture International**, v.14, n.3, p.247-257, 2005.

EIRAS, C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: EDUEM, 171p., 2000.
EMATER (RS). Diagnóstico do Setor Pesqueiro do Rio Grande do Sul. **Série Realidade Rural**. Porto Alegre, v.5, 87p., 1995.

EL-SAYED, A.F.M. Total replacement of fish meal whit animal protein sources in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, feeds. **Aquaculture Research**, v.29, p.275-280, 1998.

EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at the different salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619-9632, 2003.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. et al. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, p.225-337, 1997.

FERREIRA, C.C. et al. Substituição da levedura de cana por leite em pó e gema de ovo cozida em dietas para o jundiá. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 2008, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: SBZ, CD-ROM, 2008,

FURUYA, W.M., **Nutrição de peixes**. In: MOREIRA, H.L.M. et al. Fundamentos da moderna aquicultura. Editora da ULBRA, Canoas, p.59-68, 2001.

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

GHIRALDELLI, L. et al. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.29, p.349-356, 2007.

GISBERT, E. et al. Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. **Journal of Fish Biology**, v.61, p.1217-1229, 2002.

GOMES, L.C. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.179-185, 2000.

GUEDES, D.C. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiá (*Rhamdia* sp.) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. 1980. 99f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, 1980.

GUILLAUME, J.; CHOUBERT, G. **Digestive physiology and nutrient digestibility in fishes**. In: GUILLAUME, J. et al. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer-Praxis, Chichester, UK, p.27-56, 2001.

GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.146, p.245-259, 1996.

GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.152, p.205-221, 1997.

GUZMÁN, J.M. et al. Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **General and Comparative Endocrinology**, v.156, p.285-297, 2008.

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

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

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). **Estatística da Aquicultura e Pesca no Brasil**, 2005. <[http://200.198.202.145/seap/Dados_estatisticos/boletim2005a\(tabela\).pdf](http://200.198.202.145/seap/Dados_estatisticos/boletim2005a(tabela).pdf)>. Acesso em: 27 nov. 2009.

IZQUIERDO, M.S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L.; HERNÁNDEZ-CRUZ, C. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.22, p.97-107, 2000.

IZQUIERDO, M.S. et al. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p.25-42, 2001.

JOBLING, M.; MELOY, O.H.; SANTOS, J.; CHRISTIANSEN, B. The compensatory growth response of the atlantic cod: effects of nutritional history. **Aquaculture International**, v.2, p.75-90, 1995.

JOBLING, M.; KOSKELA, J.; SAVOLAINEN, R. Influence of dietary fat level and increased adiposity on growth and fat deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v.29, p.601-607, 1998.

JOHNSTON, A.T. et al. Hatching success of walleye embryos in relation to maternal and ova characteristics. **Ecology of Freshwater**, v.16, p.295-306, 2007.

KHAN, M.A.; JAFRI, A.K.; CHADHA, N.K. Growth, reproductive performance, muscle and egg composition in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes), fed hydrilla or formulated diets with varying protein levels. **Aquaculture Research**, v.35, p.1277-1285, 2004.

KHAN, M.A.; JAFRI, A.K.; CHADHA, N.K. Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.11-17, 2005.

LEGENDTRE, M.; KERDCHUEN, N.; CORRAZE, G.; BERGOT, P. Larval rearing of African catfish (*Heterobranchus longifilis*): effect of dietary lipids on growth, survival and fatty acid composition of fry. **Aquatic Living Resources**, v.8, p.363-365, 1996.

LAZZARI, R. et al. Diferentes fontes protéicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.60, n.2, p.477-484, 2008.

LAZZARI, R. et al. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, vol.36, n.1, p.240-246, 2006.

LING, S.; HASHIM, R.; KOLKOVSKI, S., SHU-CHIEN, A.C. Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). **Aquaculture Research**, v.37, p.1267-1275, 2006.

LOOCHMANN, S.E.; GOODWIN, K.J., LOOCHMANN, R.T.; STONE, N.M., CLEMENT, T. Volume and lipid, fatty acid, and amino acid composition of golden shiner eggs during a spawning season. **North American Journal Aquaculture**, v.69, p.116-126, 2007.

MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. **Food Science Human Nutrition**, p.633-642, 1992.

MAMBRINI, M.; GUILLAUME, L. **Protein nutrition**. In: GUILLAUME, J. et al. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer-Praxis, Chichester, UK, p.81-109, 2001.

MARTINO, R.; TAKAHASHI, N.S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. **Óleos e Grãos**, n.1, p.32-37, 2001.

MATHIS, N.; FEIDT, C.; BRUN-BELLUT, J. Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). **Aquaculture**, v.217, p.453-464, 2003.

MÉDALE, F.; GUILLAUME, L. Nutritional energetics. In: **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Paris, Ed. Chichester, France, p.59-79, 2001.

MELO, J.B.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, J.H.S. Uso de diferentes fontes de lipídios na alimentação de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000, CD-ROM.

MELO, J.B.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, J.H.S. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, v.32, n.2, p.323-327, 2002.

MELO, J.F.B. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei:Pimelodidae). **Comparative Biochemistry Physiology**, v.145, p.181-187, 2006.

MEYER, G.; FRACALLOSSI, D.M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, v.240, p.331-343, 2004.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Produção Pesqueira e Aquícola**, <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em: 05 nov. 2010.

MONTES-GIRAO, P.J.; FRACALLOSSI, D.M. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acids profile for jundiá *Rhamdia quelen*. **Journal of the World Aquaculture Society**, vol.37, n.9, 388-396. 2006.

MOREHEAD, D.T. et al. Differences in egg quality between wild striped trumpeter (*Latris lineate*) and captive striped trumpeter that were fed different diets. **Aquaculture**, v.192, p.39-53, 2001.

MOREIRA, A.B. et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *Brycon* freshwater fishes. **Journal Food Composition and Analysis**, v.14, p.565-574, 2001.

MORI, H. et al. Annual reproductive cycle of black rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Fisheries Science**, v.69, p.910-932, 2003.

MOURENTE, J.E.; GOOD, J.E.; BELL, J.G. Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E₂ and F_{2α}, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.25-40, 2005.

MURRAY, H. M. et al. A nutrigenomic analysis of intestinal response to partial soybean meal replacement in diets for juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. **Aquaculture**, v. 298, n. 3-4, p. 282-293, 2010.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**, Ed. Universidade Estadual de Maringá. Maringá-PR, 378p., 2001.

NARAHARA, M.Y.; GODINHO, H.M.; ROMAGOSA, E. Estrutura da população de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.12, p.123-137, 1985.

NG, K. et al. Replacement of dietary fish oil with palm fatty acid distillate elevates tocopherol and tocotrienol concentrations and increases oxidative stability in the muscle of African catfish *Clarias gariepinus*. **Aquaculture**, v.233, p.423-437, 2004.

NRC - National Research Council, **Nutrients requirements of fish**. National Academy Press, 114p., 1993.

NWANNA, L.C.; BOLARINWA T.O. Effects of different dietary oils on the growth and economic performance of tilapia *Oreochromis niloticus*. In: Tilapia Aquaculture. Rio de Janeiro. **Proceedings From The Fifth International Symposium on Tilapia Aquaculture**, p.227-233, 2000.

OJANGUREN, A.F.; BRAÑA, F. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. **Journal of Fish Biology**, v.62, p.580-590, 2003.

OLSEN, R.E.; LOVAAS, E.; LIE, O. The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, α -tocopherol and spermine on fatty acid composition and indices of oxidative stress in juvenile Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.20, p.13-29, 1999.

PARRA, J.E.G. Respostas reprodutivas de fêmeas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com diferentes fontes protéicas e lipídicas. 2007. 93p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Universidade de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

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, C.R. et al. Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, QUOY & GAIMARD, 1824, PISCES, TELEOSTEI) a South American catfish. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, n.4, p.1057-1063, 2006.

PEREZ, 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 Physiology**, v.146, p.187-196, 2007.

PEZZATO, L.E. **Tecnologia de processamento de dietas, alimentos e alimentação de organismos aquáticos**. CPG em Aquicultura - UNESP - Jaboticabal, SP. Universidade Estadual Paulista, 1996. 63p.

PETER, R.E.; YU, K.L. Neuroendocrine regulation of ovulation of ovulation in fishes: Basic and applied aspects. **Reviews Fish Biology Fisheries**, v.7, p.173-179, 1997.

PICKOVA, J.; BRÄNNÄS, E.; ANDERSON, T. Importance of fatty acids in broodstock diets with emphasis on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) eggs. **Aquaculture International**, vol.15, p.305-311, 2007.

PONGMANEERAT, J.; WATANABE T. Nutritional evolution of the soybean meal for rainbow trout and carp. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v.59, n.1, p.157-163, 1993.

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

RADÜNZ NETO, J.; KOHLER, C.C; LEWIS, W.M. Water re-use system of fingerling fishes in Brasil with emphasis on south American catfishes (*Rhamdia quelen* and *R. sapo*). **Tropical Agriculture**, v.64, p.2-6, 1987.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – nutrição. In: Baldisserotto, B.; Radünz Neto, J. (ed), **Criação de jundiá**, Editora UFSM. Santa Maria, p.144-160, 2004.

REGOST, C et al. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. **Aquaculture**, v.217, p.465-482, 2003.

REIDEL, A. et al. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages. **Aquaculture**, v.298, 354-359, 2010.

ROCHA, M.C. et al. Contribuição ao estudo da biologia reprodutiva do jundiá (*Rhamdia quelen*): curva reprodutiva e taxa de eclosão relacionada ao período reprodutivo. **Revista de Ciências Biológicas**. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI, v.1, n.1, p.24-32, 2005.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2^a Ed., 186p., 2005.

SALHI, M. et al. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, v.231, p.435-444, 2004.

SARGENT, J.R; et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of Fish. **Aquaculture**, v.177, p.191-199, 1999.

SARGENT, J.R; TOCHER, D.R; BELL J.G. The lipids, In: Halver, J.E.; Hardy, R.W. **Fish Nutrition**, 3rd. Academic Press, San Diego, p.181-246, 2002.

SAS. **Statistical Analysis System**. User's Guide. Version 8.02. SAS INSTITUTE INC.4. ed. North Caroline, SAS, 3864p., 2001.

SATOH, S.; POE, W.E.; WILSON, R.P. Studies on the essential fatty acid requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal Nutrition**, v.79, p.121-128, 1989.

SHIAU, S-Y. Tilapia, *Oreochromis* spp. In: Webster, C.D; LIM, C.E. **Nutrient requirement and feeding of finfish for aquaculture**. CABI Publishing. New York, USA, p.273-292, 2002.

SILFVERGRIP, A.M.C. **A systematic revision of the neotropical genus *Rhamdia***. Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology. Swedish Museum of Natural History, Stockholm, 156p., 1996.

SILVA, L.V.F.; GOLOMBIESKI, J. I.; BALDISSEROTTO, B. Incubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations. **Aquaculture**, v.228, p.279-287, 2003.

SILVA, L.V.F. Incubação e larvicultura de jundiá. In: Baldisserotto, B. & Radünz Neto, J. **Criação de jundiá**. Editora UFSM, Santa Maria, RS, p.107-116, 2004.

SINGH, S.; SINGH, T.P. Seasonal profiles of sex steroids in blood plasma and ovarian tissue of *Clarias batrachus*. **General Comparative Endocrinology**, v.65, p.216–224, 1987.

SINGH R.; DHAWAN A. Effect of formulated diets on the growth and ovarian maturation in common carp *Cyprinus carpio communis* Linn. **Indian Journal of Fisheries**, v.43, p.349-353, 1996.

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, p.68-76, 2008.

SINK, T.D. et al. Effects of dietary protein source and protein-lipid source interaction on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg production and quality, and fry hatching percentage and performance. **Aquaculture**, v.298, p.251-259, 2010.

SPARLING, D.W.; VANN, S.; GROVES, R.A. Blood changes in mallards exposed to white phosphorus. **Environment Toxicology and Chemical**, v.17, 12, p.2521-2539, 1998.

SPIES, J.R. **Colorimetric procedures for amino acids**. Methods in Enzimology v.3, p.467-477, 1957.

STEFFENS, W. **Princípios fundamentais de la alimentacion de los peces**. Zaragoza, Espanha, ed. Acrribia, S.A., 285p., 1987.

STEFFENS, W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. **Aquaculture**, v.151, p.97-119, 1997.

SUÁREZ, M.D. et al. M. Influence of the relative proportions of energy yielding nutrients on liver intermediary metabolism of the European eel. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.111A, n.3, p.421-428, 1995.

TOLOSA, E.M.C; RODRIGUES, C.J.; PEHMER, O.A. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Editora Manole, 341p. 2003.

ULIANA, O; SILVA, J.H.S; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v.31, n.1, p.129-133, 2001.

VAZZOLER, A. E. A. de M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM Editora da Universidade Estadual de Maringá, São Paulo: 167p. 1996.

VEIVERBERG, C.A. et al. Farelo de soja como substituto à farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.34, n.3, p.463-472, 2008.

VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. Ácidos graxos em peixe: implicações nutricionais e aspectos analíticos no Brasil. PUBVET-Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, v.1, n.5, p.1982-1263, 2007.

WIEGAND, M.D. et al. Variation in neutral and polar lipid compositions in ova in ten reproductively isolated populations of walleye (*Sandrus vitreus*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.61, p.110-121, 2004.

YAMAMOTO, T.; UNUMA, T.; AKIYAMA, T. The influence of dietary protein and fat levels on tissue amino acid levels of fingerlings rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.182, p.353-372, 1999.

YANES-ROCA, et al. Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). **Aquaculture**, v.287, p.335-340, 2009.

ZHENG, X. et al. Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.236, p.467-483, 2004.

ZHENG, K. et al. Effects of dietary lipid levels on growth, survival and lipid metabolism during early ontogeny of *Pelteobagrus vachelli* larvae. **Aquaculture**, v.299, p.121-127, 2010.

ANEXOS

Anexo 1 – Representação das observações microscópicas realizadas dos ovócitos e estádios de maturação ovocitária das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de proteína nas dietas

Estádios de maturação ovocitária ¹					
Tratamentos	I	II	III	IV	V
Dia zero					
Inicial	X	X		X	
	X	X		X	
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
45 dias					
P 28	X	X	X	X	
	X	X	X		
	X	X		X	
	X	X		X	
P 34	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X	X	
	X	X	X		
	X	X			X
	X	X			X
P 40	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X			
	X	X			
	X	X			
	X	X			
90 dias					
P 28	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
P 34	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	X
	X	X	X	X	
P 40	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	

¹Estádio I: Imaturo; estágio II: maturação inicial; estágio III: maturação final; estágio IV: maduro; estágio V: atresico.

Anexo 2 – Representação das observações microscópicas realizadas dos ovócitos e estádios de maturação ovocitária das fêmeas de jundiá em resposta aos níveis de lipídio nas dietas

Tratamentos	Estádios de maturação ovocitária ¹				
	I	II	III	IV	V
Dia zero					
Inicial	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X	X	
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
45 dias					
L 8	X	X	X	X	
	X	X	X		
	X	X		X	
	X	X		X	
	X	X			
L 14	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
	X	X	X		
L 20	X	X			
	X	X			
	X	X	X		
	X	X	X	X	
	X	X			
90 dias					
L 8	X	X	X	X	X
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
L 14	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
L 20	X	X	X	X	
	X	X	X	X	X
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	
	X	X	X	X	

¹Estádio I: Imaturo; estágio II: maturação inicial; estágio III: maturação final; estágio IV: maduro; estágio V: atrésico.