

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**MANIPULAÇÃO DE HORAS DE LUZ E TEMPERATURA DA ÁGUA NA
REPRODUÇÃO INDUZIDA DE *Astyanax altiparanae* DURANTE O INVERNO**

Mariana Machado Evangelista

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Romagosa

Coorientador: Dr. Fábio Rosa Sussel

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo
Janeiro - 2015

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**MANIPULAÇÃO DE HORAS DE LUZ E TEMPERATURA DA ÁGUA NA
REPRODUÇÃO INDUZIDA DE *Astyanax altiparanae* DURANTE O INVERNO**

Mariana Machado Evangelista

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Romagosa

Coorientador: Dr. Fábio Rosa Sussel

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo
Janeiro - 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

E92m

Evangelista, Mariana Machado

Manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução induzida de *Astianax altiparanae* durante o inverno / Mariana Machado Evangelista – São Paulo, 2015.

xi, 49f. ; il. ; tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientadora: Elizabeth Romagosa

1. Análise econômica. 2. Lambari-do-rabo-amarelo. 3. Manipulação ambiental. 4. Parâmetros reprodutivos. I. Romagosa, Elizabeth. II. Título.

CDD 639.3



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

INSTITUTO DE PESCA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**"MANIPULAÇÃO DE HORAS DE LUZ E TEMPERATURA DA ÁGUA NA
REPRODUÇÃO INDUZIDA DE *Astyanax altiparanae* DURANTE O
INVERNO"**

AUTOR: MARIANA MACHADO EVANGELISTA

ORIENTADOR: Elizabeth Romagosa

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA

Prof. Dr. GEORGE SHIGUEKI YASUI

Prof. Dr. FÁBIO BITTENCOURT

Data da realização: 29 de janeiro de 2015

Presidente da Comissão Examinadora
Profa. Dra. Elizabeth Romagosa

EPÍGRAFE

Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos se não fora
A mágica presença das estrelas!

(Mário Quintana)

DEDICATÓRIA

À minha mãe pelo apoio e amor de sempre.

AGRADECIMENTOS

À *Profa. Dra. Elizabeth Romagosa* pela orientação, valiosos ensinamentos, amizade, conselhos, paciência, incentivo e dedicação de sempre.

Ao *Dr. Fábio Sussel*, pelo auxílio na montagem e na condução dos experimentos.

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

À *CAPES* (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsa de estudos.

À *FAPESP* (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão de bolsa de estudos (Processo FAPESP 13715-8).

Ao *Instituto de Pesca, APTA, SAA – SP* e ao *Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca* pela infraestrutura e oportunidade. A todos os docentes e funcionários pela contribuição na minha formação profissional e por todo o auxílio. Ao secretário da Pós-Graduação *Ocimar Pedro* pela atenção e disponibilidade em ajudar.

À banca examinadora *Dr. Eduardo Antonio Sanches, Dr. Eduardo Medeiros Ferraz*, pelas contribuições e sugestões no Exame de Qualificação.

Ao *Dr. George Shigueki Yasui* e *Dr. Fábio Bittencourt* por aceitarem participar da banca examinadora da Dissertação.

À *Dra. Maria Letícia Petesse* (Pós-doutoranda do Instituto de Pesca) pelo auxílio na análise estatística dos dados.

Ao *Dr. João Donato Scorvo Filho* (Pesquisador Científico do Polo APTA Leste Paulista) pelo auxílio na análise econômica.

Aos pesquisadores *Dr. Hélcio Marques* e *Dr. Marcello Boock* pelo conhecimento compartilhado.

Aos amigos *Ednara Araújo, Eliana Oshiro, Guilherme Telli, Manoel Ribeiro, Mayara Pereira, Raíssa Cavalcante* e *Thaís Ferreira* pelo companheirismo, pelos momentos de alegria e descontração, pela rica troca de experiências e pelo auxílio na condução dos experimentos.

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

Aos amigos *Bianca Fukuda, Danilo Marques, Diego Sasso, Gabriela Leghi, Gabriela Santos, Jéssica Varizo, Marcel Pinto, Mariana Negri, Mariana Terossi, Raquel Buranelli e Ricardo Saidel* que apesar da distância sempre se fizeram presentes me apoiando e incentivando.

À minha família que sempre apoiou minhas escolhas e me motivou a buscar meus objetivos. Em especial à minha mãe, *Maria Aparecida Machado*, e à minha avó, *Angelina Machado*, que estiveram ao meu lado em todos os momentos e não pouparam esforços para me proporcionar a melhor formação possível. À minha prima *Beatriz Machado* pela alegria que proporciona a todos, e aos meus tios, *Carlos Machado e Estevam Machado*, pelo apoio, acolhida e auxílio em todos os momentos que precisei.

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

A todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	3
OBJETIVOS	5
CAPÍTULO I	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. AGRADECIMENTOS	24
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO II	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1. INTRODUÇÃO	33
2. MATERIAL E MÉTODOS	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. AGRADECIMENTOS	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
PERSPECTIVAS FUTURAS	49

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Horas de luz e temperatura da água em que foram mantidos os exemplares de *Astyanax altiparanae* do G1 e G2. Em negrito estão indicadas as semanas em que foram realizadas as coletas de dados. 12

Tabela 2. Itens e valores do custo operacional efetivo (COE) e total (COT) da manutenção de matrizes e produção de larvas de *Astyanax altiparanae* submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água. 16

Tabela 3: Parâmetros reprodutivos de *Astyanax altiparanae* submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água. 18

Tabela 4. Total estimado de ovos e larvas de *Astyanax altiparanae* produzidos a partir de matrizes submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água, e indicadores econômicos. 23

Figura 1: Procedimentos das coletas realizadas ao longo do experimento.
A. Estimativa do número de ovos produzidos e determinação do diâmetro.
B. Estimativa das taxas de fertilização e sobrevivência das larvas
C. Análise histológica. 13

Figura 2: A. Fêmea de *Astyanax altiparanae* com ovários em estágio maduro.
B. Oócitos maduro (M) e primário (seta). **C.** Zona radiata (ZR), alvéolo cortical (AC) e grânulos de vitelo (GV). 17

Figura 3: Estádios de desenvolvimento oocitário em *Astyanax altiparanae*.
A. Oócitos primário (P) e pré-vitelogênico (PV). **B.** Oócito vitelogênico (V).
C. Oócito maduro (M). **D.** Aparelho micropilar em detalhe. **E.** Oócito em atresia inicial. **F.** Oócito em atresia intermediária. **G.** Oócito em atresia final. 20

Figura 4. A. Complexo folicular pós-ovulatório (CPO) observando-se no interior do lúmen a célula micropilar (seta), e vaso sanguíneo adjacente (VS).
B. Complexo folicular pós-ovulatório (CPO) em detalhe, observando-se o lúmen vazio (L). 21

CAPÍTULO II

Tabela 1. Horas de luz e temperatura da água em que foram mantidos os exemplares de *Astyanax altiparanae* do F1 e do F2. Em negrito estão indicadas as semanas em que foram realizadas as coletas de dados. 35

Tabela 2. Itens e valores do custo operacional efetivo (COE) e total (COT) da manutenção de matrizes e produção de larvas de *Astyanax altiparanae* no inverno e na primavera. 38

Tabela 3: Parâmetros reprodutivos de *Astyanax altiparanae* verificados em desovas “out-of-season” (F1) e na estação reprodutiva natural (F2). 39

Tabela 4. Total estimado de ovos e larvas de *Astyanax altiparanae* produzidos em desovas “out-of-season” (inverno) e durante a estação reprodutiva natural (primavera), e indicadores econômicos. 43

Figura 1: Esquema das fases utilizadas durante a realização do experimento. 34

Figura 2. Oócitos de *Astyanax altiparanae*. **A.** Fêmeas que responderam à indução hormonal. **A1.** Oócito pré-vitelogênico com zona radiata evidente (seta grossa) e núcleo com contorno irregular (setas finas). **A2.** Oócito vitelogênico com grânulos de vitelo (cabeça de seta), alvéolos corticais (setas finas) e zona radiata espessa (seta grossa). **A3.** Complexo folicular pós-ovulatório (CPO). **B.** Fêmeas que não responderam à indução hormonal. **B1.** Oócito em atresia inicial com grânulos de vitelo (GV) e zona radiata contorcida (setas). **B2.** Oócito em atresia intermediária com grânulos de vitelo fundidos formando uma massa (setas). **B3.** Oócito em atresia final com restos de vitelo (setas). 44

RESUMO

O objetivo do trabalho foi (1) avaliar o efeito da manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução induzida de *Astyanax altiparanae* no inverno (out-of-season), e (2) comparar os parâmetros reprodutivos obtidos no inverno e na primavera (estação reprodutiva natural). Na primeira fase do experimento, realizada entre julho e agosto de 2013 (inverno, 57 dias), foram utilizados dois grupos de 32 casais. O primeiro grupo foi mantido em condições naturais de horas de luz e temperatura da água, enquanto que no segundo grupo tais variáveis foram manipuladas de forma a apresentar valores próximos aos registrados na primavera. A cada 14 dias, 8 casais de cada grupo foram submetidos à hipofiseção, tendo-se acompanhado a liberação, número, fertilização e diâmetro dos ovos, a evolução dos ovários, e sobrevivência larval até o terceiro dia de vida. Ademais, foram estimados custos, receita e lucro da produção. No grupo cujas condições ambientais foram controladas, a proporção de fêmeas que desovaram foi superior (81,25 contra 9,38%; $p=0,0000$), assim como o número de ovos (g fêmea)⁻¹ (710,95 ± 335,59 contra 262,81 ± 179,42; $p=0,0328$), entretanto, os ovos foram menores (603,20 ± 24,34 contra 608,16 ± 22,57 µm; $p=0,0042$). Não houve diferença entre os grupos para os valores das taxas de fertilização e sobrevivência das larvas ($p=0,0853$ e $p=0,2434$, respectivamente). Nos ovários dos peixes mantidos em condições ambientais naturais a maioria dos oócitos estava em atresia, enquanto que no outro grupo foi observada alta incidência de folículos pós-ovulatórios, oócitos primários e pré-vitelogênicos. O lucro operacional da produção de larvas no regime de manipulação de horas de luz e temperatura da água foi superior (US\$ 976,558 contra US\$ -75,033), assim como a margem bruta (552,16% contra -77,74%). Na segunda fase, conduzida entre outubro e novembro de 2013 (primavera, 57 dias), 32 casais foram mantidos em condições naturais de horas de luz e temperatura da água. A cada 14 dias foram executados os mesmos procedimentos de coleta de dados realizados na primeira fase. Os parâmetros reprodutivos verificados foram comparados aos obtidos para o grupo de inverno mantido em condições ambientais manipuladas. Não houve diferença quanto à proporção de fêmeas que desovaram ($p=0,2526$), entretanto, o número de ovos (g fêmea)⁻¹ na primavera foi superior à no inverno (999,61 ± 367,53 contra 710,95 ± 335,59; $p=0,0066$), bem como o diâmetro médio dos ovos (611,61 ± 31,54 contra 603,20 ± 24,34 µm; $p=0,0000$). Em relação à taxa de fertilização, o grupo de inverno apresentou valor superior (84,85 ± 18,35 contra 71,70 ± 26,64%; $p=0,0472$), entretanto, não houve diferença para os valores da taxa de sobrevivência larval ($p=0,7955$). Nas fêmeas de ambos os grupos que desovaram foram abundantes os folículos pós-ovulatórios, oócitos primários e pré-vitelogênicos, enquanto que nas fêmeas que não desovaram foram predominantes oócitos em atresia. O lucro operacional da produção de larvas na primavera foi superior ao no inverno (US\$ 1.498,542 contra US\$ 976,558), bem como a margem bruta (1.552,64 contra 552,16%). Os resultados de ambas as fases indicaram que a manipulação ambiental foi eficiente na produção de desovas “out-of-season” de *A. altiparanae*, tendo permitido a obtenção de respostas comparáveis às observadas durante o período reprodutivo natural da espécie. Dessa forma, é estratégico que tal manipulação seja adotada com o objetivo de permitir a produção contínua de ovos e larvas ao longo do ano.

Palavras-chave: Análise econômica, lambari-do-rabo-amarelo, manipulação ambiental, parâmetros reprodutivos.

ABSTRACT

The aim of this study was (1) to evaluate the effect of manipulating hours of light and temperature on the induced reproduction of *Astyanax altiparanae* during winter (out-of season), and (2) compare the reproductive parameters observed during winter and spring (natural breeding season). During the first phase of the experiment, accomplished during July and August 2013 (winter, 57 days), two groups of 32 couples were used. The first group was kept in natural environmental conditions of hours of light and temperature, on the other hand, on the second group these variables were manipulated in order to achieve similar conditions to those observed in spring. Each 14 days, eight couples of each group were hormonally induced with carp pituitary extract, and then eggs were collected after natural spawning. Amount of eggs, fertilization rates and diameter were measured from each spawn. Additionally, microscopiest changes in ovaries, larval survival (3th day) were evaluated. Costs, incoming and profit of the production were estimated. In the group that environmental conditions were controlled, the proportion of females that spawned was higher (81,25 vs.9,38%; $p=0,0000$), and the same was observed for the number of eggs (g female)⁻¹ (710,95 ± 335,59 vs. 262,81 ± 179,42; $p=0,0328$). However, in this group, the diameter of the eggs was smaller (603,20 ± 24,34 vs. 608,16 ± 22,57 µm). Values of fertilization and survival rates did not differ among the groups ($p=0,0853$ and $p=0,2434$, respectively). Most of the oocytes of fish kept in natural environmental conditions were atretic, in the other group were observed many postovulatory follicles, primary and previtellogenic oocytes. Operational profit from eggs and larvae produced by manipulation of hours of light and temperature was greater (US\$ 976,558 vs. US\$ -75,033), as well as the gross margin (552,16 vs. -77,74%). On the second phase, which occurred during October and November 2013, 32 couples were kept in a system where hours of light and water temperature were not controlled. Every 14 days the same procedures of data collection carried out on the first phase were performed. The reproductive parameters obtained were compared to those verified on the winter group which was kept in manipulated environmental conditions. No difference was observed on the proportion of females that released oocytes ($p=0,2526$), however, the number of eggs (g female)⁻¹ on spring was greater than on winter (999,61 ± 367,53 vs. 710,95 ± 335,59; $p=0,0066$), as well as the diameter of the eggs produced (611,61 ± 31,54 vs. 603,20 ± 24,34 µm; $p=0,0000$). The value of fertilization rate of winter group was greater than the value of the spring group (84,85 ± 18,35 vs. 71,70 ± 26,64%; $p=0,0472$), and no difference was observed for the survival rate ($p=0,7955$). Females from both groups that spawned had ovaries with many postovulatory follicles, and primary and previtellogenic oocytes, whereas in females that not spawned most of the oocytes were atretic. Operational profit from larvae production during spring was greater than during winter (US\$ 1.498,542 vs. US\$ 976,558), as well as the gross margin (1.552,64 vs. 552,16%). The results of both phases indicated that environmental manipulation was efficient on *A. altiparanae* out-of-season spawning and lead to responses that were comparable to those observed during natural breeding season. Thus, it is advantageous to adopt this strategy in order to enable the production of eggs and larvae during most of the year.

Keywords: Economic analysis, environmental manipulation, reproductive parameters, yellowtail tetra.

INTRODUÇÃO GERAL

Astyanax altiparanae Garutti & Britski, 2000, popularmente conhecido como lambari-do-rabo-amarelo, lambari-relógio ou tambiú, é uma espécie da família Characidae nativa da América do Sul distribuída na bacia do alto rio Paraná (LIMA *et al.*, 2003). Inúmeras características fazem com que a espécie apresente potencial para aquicultura, tais como, facilidade de manejo, aceitação de alimentação artificial e alta prolificidade (GONÇALVES *et al.*, 2014). Além disso, o ciclo de produção desses peixes é curto: após cerca de três meses de cultivo os animais atingem tamanho adequado para comercialização, com médias de comprimento e peso de 8 a 10 cm e 10 a 20 g, respectivamente (GARUTTI, 2003), e atualmente a espécie também vem sendo utilizado como modelo biológico (DRUMMOND *et al.*, 2000; FELIZARDO *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2013; YASUI *et al.*, 2014). Apesar da importância comercial de *A. altiparanae*, são escassos estudos relacionados à produção em larga escala.

A atual produção de *A. altiparanae* no Brasil destina-se à comercialização para o consumo direto e, principalmente, ao mercado de iscas-vivas (FERREIRA *et al.*, 2014). No estado de São Paulo é utilizado na pesca esportiva do tucunaré (lambaris de 8 a 12 cm) e da pescada do piauí (lambaris de 5 a 7 cm) (SILVA *et al.*, 2011). Nesse estado, assim como no Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, a demanda pela espécie se inicia em setembro, entretanto, no Mato Grosso e Oeste do Mato Grosso do Sul a demanda se encerra no mês de novembro devido ao período de defeso das espécies nativas (SUSSEL, 2013; comunicação pessoal¹). Em contrapartida, os primeiros lotes de peixes estão disponíveis para comercialização apenas em dezembro, o que ocorre devido à restrição do período reprodutivo da espécie que, segundo PORTO-FORESTI *et al.* (2010), é de setembro a março. Com isso, constata-se que para o melhor aproveitamento do mercado existente para *A. altiparanae* seria estratégica a antecipação da reprodução.

Assim como ocorre com *A. altiparanae*, a maioria das espécies de peixes tem a reprodução restrita a períodos específicos, o que ocasiona uma distribuição descontínua da produção de alevinos (BAIRWA *et al.*, 2013). Segundo CHEMINEAU *et al.* (2007) essa sazonalidade representa um obstáculo do ponto de vista comercial, pois em todas as áreas de produção

¹Informação fornecida por Fábio Rosa Sussel no Polo APTA Centro Leste – UPD Pirassununga, São Paulo, em fevereiro de 2013.

animal é verificada uma exigência do mercado pela oferta constante de produtos ao longo do ano. Diante desse panorama é fundamental para a expansão da indústria aquícola a busca por métodos que permitam a produção de desovas fora da estação reprodutiva natural (out-of-season) (KUCHARCZYK *et al.*, 2008). Para tal, é necessário que sejam levados em consideração os fatores que exercem influência no ciclo reprodutivo desses animais, para que então possam ser manipulados artificialmente.

Nos peixes, a ritmicidade das atividades biológicas é controlada pela atuação de relógios endógenos em conjunto com variações sazonais nas condições ambientais (OLIVEIRA e SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2010), e no que diz respeito à reprodução, horas de luz e temperatura da água são as principais variáveis envolvidas (MIGAUD *et al.*, 2010). A duração do dia, mesmo em peixes de ambientes tropicais e subtropicais, apresenta papel crucial no controle do ritmo de maturação gonadal, uma vez que segue um padrão livre de interferências ambientais que não é alterado ao longo dos anos (BROMAGE *et al.*, 2001; CARRILLO *et al.*, 2009). Em relação à temperatura, várias formas de ação no ciclo reprodutivo foram propostas, tais como, influência na secreção de gonadotrofinas, eliminação metabólica de hormônios e resposta à ação de estrógenos sobre a produção de vitelogenina pelo fígado (BALDISSEROTTO, 2013).

A manipulação das horas de luz e da temperatura da água tem apresentado resultados positivos na antecipação ou atraso do período reprodutivo de diversas espécies de peixes, como *Maccullochella peelii peelii* (NEWMAN *et al.*, 2010), *Solea senegalensis* (OLIVEIRA *et al.*, 2011), *Pseudorasbora parva* (ZHU *et al.*, 2013), e *Oncorhynchus mykiss* (NOORI *et al.*, 2014), entretanto são escassos estudos dessa natureza com peixes neotropicais, bem como trabalhos que considerem aspectos financeiros da produção “out-of-season” de ovos e larvas. Segundo CASACA e TOMAZELLI JÚNIOR (2001) a análise de variáveis econômicas deve ser realizada antes da implantação de qualquer sistema aquícola, sendo de fundamental importância para o planejamento e sucesso da atividade. Dessa forma, diante do atual cenário de comercialização de *A. altiparanae* e da necessidade de eliminar o período de entressafra, avaliou-se o efeito da manipulação ambiental (horas de luz e temperatura da água) na reprodução induzida da espécie no inverno (out-of-season), e foram comparados os parâmetros reprodutivos no inverno com

aqueles verificados durante a primavera (estação reprodutiva natural). Além disso foram estimados custos, receita e lucro da produção nas duas estações reprodutivas.

Para facilitar a publicação dos resultados obtidos foram elaborados dois artigos científicos que se encontram aqui apresentados como capítulos I e II. Os capítulos seguem as normas do periódico *Aquaculture*, ao qual serão submetidos.

Capítulo I: Manipulação ambiental na produção de ovos de *Astyanax altiparanae* durante o inverno

Capítulo II: Desovas de *Astyanax altiparanae* “out-of-season” (inverno) e na estação reprodutiva natural (primavera)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIRWA, M.K.; SAHARAN, N.; RAWAT, K.D.; JAKHAR, J.K.; BERA, A. 2013 Photoperiod, melatonin and its importance in fish reproduction. *Central European Journal of Experimental Biology*, Warsaw, 2(4): 7-15.
- BALDISSEROTTO, B. 2013 *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: Editora UFSM. 352p.
- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. 2001 The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonina. *Aquaculture*, Amsterdam, 197(1–4): 63–98.
- CARRILLO, M.; ZANUY, S.; BAYARRI, M.J. 2009 El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precocidad. In: ESTÉVEZ, M.A.C. *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura. p.175-246.
- CASACA, J.M.; TOMAZELLI JÚNIOR, O. 2001 Planilhas para cálculos de custo de produção de peixes. Florianópolis: Epagri. 38p.
- CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; BRILLARD, J.P.; FOSTIER, A. 2007 Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, Cambridge, 1(3): 419–432.
- DRUMMOND, C.D.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, A. 2000 Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. *Journal of Experimental Zoology*, New York, 287(2): 176-182.
- FELIZARDO, V.O.; MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; LÓPEZ, P.A.; FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; FREITAS, M.B.D. 2014 Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the Aquaculture Society*, Baton Rouge, 45(1): 28-34.
- FREITAS, R.T.F.; FERREIRA, M.R. 2012 Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, New York, 77: 1570–1574.
- GARUTTI, V. 2003 *Piscicultura ecológica*. São Paulo: Editora UNESP. 332p.

- GOMES, C.C.; COSTA, F.G.; BORELLA, M.I. 2013 Distribution of GnRH in the brain of the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000). *Micron*, Oxford, 52-53: 33-38.
- GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. 2014 The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, Oxford, 45(2): 195–203.
- KUCHARCZYK, D.; TARGOŃSKA, K.; HLIWA, P.; GOMUŁKA, P.; KWIATKOWSKI, M.; KREJSZEFF, S.; PERKOWSKI, J. 2008 Reproductive parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L) spawners during natural season and out-of-season spawning. *Reproductive Biology*, Olsztyn, 8(3): 285-289.
- LIMA, F.C.T.; MALABARBA, L.R.; BUCKUP, P.A.; SILVA, J.F.P.; VARI, R.; HAROLD, A.; BENINE, R.; OYAKAWA, O.Y.; PAVANELLI, C.S.; MENEZES, N.A.; LUCENA, C.A.S.; MALABARBA, M.C.S.L.; LUCENA, Z.M.S.; REIS, R.E.; LANGEANI, F.; CASSATI, L.; BERTACO, V.A.; MOREIRA, C.; LUCINDA, P.H.F. 2003 Genera Incertae Sedis in Characidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C.J. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS. p.106-169.
- MIGAUD, H.; DAVIE, A.; TAYLOR, J.F. 2010 Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *Journal of Fish Biology*, London, 76(1): 27–68.
- NEWMAN, D.M.; JONES, P.L.; INGRAM, B.A. 2010 Advanced ovarian development of Murray cod *Maccullochella peelii peelii* via phase-shifted photoperiod and two temperature regimes. *Aquaculture*, Amsterdam, 310(1-2): 206-212.
- NOORI, A.; AMIRI, B. M.; MIRVAGHEFI, A.; RAFIEE, G.; NEITALI, B.K. 2014 Enhanced growth and retarded gonadal development of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) following a long-day photoperiod. *Aquaculture Research*, Oxford, 2014: 1-9.
- OLIVEIRA, C.; MAÑANÓS, E. ; RAMOS, J.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. 2011 Impact of photoperiod manipulation on day/night changes in melatonin, sex steroids and vitellogenin plasma levels and spawning rhythms in Senegal sole, *Solea senegalensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, New York, 159(3): 291-295.
- OLIVEIRA, C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. 2010 Reproduction Rhythms in Fish. In: KULCZYKOWSKA, E.; POPEK, W. *Biological clock in fish*. New Hampshire: Science Publishers. p.185-215.
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. 2010 Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Editora da UFSM. p.105-120.
- SILVA, N.J.R.; LOPES, M.C.; FERNANDES, J.B.K.; HENRIQUES, M.B. 2011 Caracterização dos sistemas de criação e da cadeia produtiva do lambari no estado de São Paulo, Brasil. *Informações Econômicas*, São Paulo, 41(9): 17-28.
- YASUI, G.S.; SENHORINI, J.A.; SHIMODA, E.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L.S.O.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; SILVA, L.A. 2014 Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*, Cambridge, 13:1-7.
- ZHU, D.; YANG, K.; GUL, Y.; SONG, W.; ZHANG, X.; WANG, W. 2013 Effect of photoperiod on growth and gonadal development of juvenile Topmouth Gudgeon *Pseudorasbora parva*. *Environmental Biology of Fishes*, Dordrecht, 97: 147-156.

OBJETIVOS

GERAL

Verificar o efeito da manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução induzida de *Astyanax altiparanae* no período do inverno (out-of-season), e comparar os parâmetros reprodutivos e índices econômicos àqueles verificados durante a primavera (estação reprodutiva natural).

ESPECÍFICOS

1. Avaliar número e diâmetro dos ovos liberados, características microscópicas dos ovários, e taxas de fertilização e sobrevivência larval referentes às desovas de inverno e primavera.
2. Comparar custos, receita e lucro da produção nas duas estações reprodutivas.

CAPÍTULO I

MANIPULAÇÃO AMBIENTAL NA PRODUÇÃO DE OVOS DE *Astyanax altiparanae* DURANTE O INVERNO

MANIPULAÇÃO AMBIENTAL NA PRODUÇÃO DE OVOS DE *Astyanax altiparanae* DURANTE O INVERNO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da manipulação de horas de luz e temperatura da água na produção de ovos de *Astyanax altiparanae* durante o inverno. O experimento foi realizado entre julho e agosto de 2013 (57 dias), utilizando-se dois grupos de 32 casais (G1 e G2). No G1 não foram controladas horas de luz e temperatura da água, enquanto que no G2 essas variáveis foram manipuladas de forma a apresentar valores próximos aos registrados na primavera (média de horas de luz e temperatura da água: 13,85 e 24,40°C, respectivamente). A cada 14 dias, 8 casais de cada grupo foram submetidos à indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa, tendo-se acompanhado a liberação, número, fertilização e diâmetro dos ovos, a evolução dos ovários, e sobrevivência larval até o terceiro dia de vida. Posteriormente, foram estimados custos, receita e lucro da produção. A proporção de fêmeas do G2 que liberaram oócitos foi superior ao G1 (81,25 contra 9,38%; $p=0,0000$), assim como o número de ovos (g fêmea)⁻¹ (G1: 710,95 ± 335,59; G2: 262,81 ± 179,42; $p=0,0328$). Os ovos do G1 apresentaram diâmetro médio superior aos do G2 (608,16 ± 22,57 contra 603,20 ± 24,34 µm; $p=0,0042$). Não foi verificada diferença entre os grupos para os valores das taxas de fertilização e sobrevivência das larvas ($p=0,0853$ e $p=0,2434$, respectivamente). Nos ovários do G2 foi observada alta incidência de folículos pós-ovulatórios, oócitos primários e pré-vitelogênicos, enquanto que no G1 a maioria dos oócitos se encontrava em atresia. O lucro operacional da produção de ovos e larvas no regime de horas de luz e temperatura do G2 foi superior ao G1 (US\$ 976,558 contra US\$ -75,033), sendo o mesmo observado para a margem bruta (552,16% contra -77,74%). Em suma, os parâmetros reprodutivos verificados, juntamente com a análise econômica, indicam que a manipulação ambiental pode ser associada às atuais práticas de manejo reprodutivo estendendo a produção de ovos e larvas por maior período do ano.

Palavras-chave: Análise econômica, horas de luz, lambari-do-rabo-amarelo, parâmetros reprodutivos, reprodução induzida, temperatura.

ENVIRONMENTAL MANIPULATION ON THE PRODUCTION OF *Astyanax altiparanae* EGGS DURING WINTER

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of manipulating hours of light and water temperature on the egg production of *Astyanax altiparanae* during winter. The experiment was conducted during July and August 2013 (57 days), and two groups of 32 couples of fish (G1 and G2) were used. On G1 hours of light and water temperature were not controlled, on the other hand, on G2 these variables were manipulated in order to achieve similar conditions to those observed in spring (average hours of light: 13,85; average water temperature: 24,40°C). Each 14 days, eight couples of each group were hormonally induced with carp pituitary extract, and then eggs were collected after natural spawning. Amount of eggs, fertilization rates and diameter were measured from each spawn. Additionally, microscopiest changes in ovaries, larval survival (3th day) were evaluated. Costs, incoming and profit of the production were estimated. The percentage of females from G2 that spawned was greater than G1 (81,25 vs. 9,38%; $p=0,0000$), the same trend was observed for the number of eggs (g female)⁻¹ (G1: 710,95 ± 335, G2: 262,81 ± 179,42; $p=0,0328$). Eggs produced by G1 were larger than those produced by G2 (608,16 ± 22,57 vs. 603,20 ± 24,34 µm diameter; $p=0,0042$). Values of fertilization and survival rates did not differ within groups ($p=0,0853$ and $p=0,2434$, respectively). Ovaries of G2 presented many postovulatory follicles, primary and previtellogenic oocytes; most of G1 oocytes were atretic. Operational profit from eggs and larvae production on G2 hours of light and temperature system was greater than G1 (US\$ 976,558 vs. US\$ -75,033), as well as the gross margin (552,16 vs. -77,74%). In conclusion, the reproductive parameters, as well as the economic analysis, showed that environmental manipulation may improve reproduction management practices extending eggs and larvae production to a longer period of the year.

Keywords: Economic analysis, hours of light, induced reproduction, reproductive parameters, temperature, yellowtail tetra.

1. INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de peixes tem a reprodução limitada a épocas do ano definidas, que correspondem àquelas cujas condições ambientais são mais propícias ao desenvolvimento das formas jovens, otimizando a sobrevivência (VAZZOLER *et al.*, 1997; MARTÍNEZ, 2000; BROMAGE *et al.*, 2001). Um dos pré-requisitos para a produção das espécies em cativeiro é a possibilidade de controle das fases do ciclo de vida, principalmente da reprodução (MYLONAS *et al.*, 2010). Entretanto, um entrave ao setor produtivo é a restrição da produção de ovos e larvas à estação reprodutiva, resultando em uma distribuição descontínua de alevinos (BAIRWA *et al.*, 2013). Assim, o ajuste do período reprodutivo por meio da manipulação ambiental é uma ferramenta de alta aplicabilidade na obtenção de ovos fora do período reprodutivo (out-of-season) propiciando a produção controlada e reduzindo o período de entressafra (RAMOS *et al.*, 2002; DUNCAN *et al.*, 2013).

No controle da reprodução dos peixes estão envolvidas variáveis ambientais como, regime de chuvas, disponibilidade de alimento e fases da lua (PANKHURST e POTTER, 2003), entretanto, em peixes de ambiente temperado, horas de luz e temperatura da água são os principais parâmetros que, quando controlados, promovem o adiantamento ou atraso do processo de desenvolvimento gonadal (DUNCAN *et al.*, 2013). Por outro lado, em espécies de peixes neotropicais são escassos estudos associando a manipulação de variáveis ambientais ao manejo reprodutivo.

Neste particular, optou-se por *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000, popularmente conhecido como lambari-do-rabo-amarelo, lambari-relógio ou tambiú, espécie de potencial para aquicultura brasileira (GONÇALVES *et al.*, 2014). Sabe-se que a atual produção dessa espécie é destinada principalmente, ao mercado de isca-viva, e para o consumo direto (FERREIRA *et al.*, 2014). Ademais, vem sendo utilizada como modelo biológico (DRUMMOND *et al.*, 2000; FELIZARDO *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2013; YASUI *et al.*, 2014), devido a características como, crescimento rápido, facilidade de manejo, aceitação de alimentação artificial e alta prolificidade (GONÇALVES *et al.*, 2014). A espécie atinge maturação gonadal aproximadamente aos cinco meses de idade (GARUTTI, 2003), apresentando desova parcelada durante os meses de setembro a março (PORTO-Foresti

et al., 2010), essa restrição do período reprodutivo limita a oferta do produto ao longo do ano.

Diante desse cenário, objetivou-se avaliar o efeito da manipulação de horas de luz e temperatura da água na produção de ovos de *Astyanax altiparanae* durante o inverno. Foram avaliados o número e diâmetro dos ovos liberados, a taxa de fertilização, as características microscópicas dos ovários, e a sobrevivência larval. Paralelamente, foram comparados custos, receita e lucro da produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Polo APTA Centro Leste – UPD Pirassununga, São Paulo (21°55'37,4"S 47°22'10,0"O), durante o período de 3 de julho e 28 de agosto de 2013 (57 dias), com aprovação do *Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Pesca* (Protocolo 07/2013).

Para a identificação do sexo de *Astyanax altiparanae* foi utilizada como critério a presença de espículas na nadadeira anal, sendo estas evidentes nos machos (GARUTTI, 2003). Dessa forma, antes do início do experimento, oito (8) fêmeas tomadas ao acaso foram anestesiadas em benzocaína (2 g.L⁻¹; FELIZARDO *et al.*, 2012), eutanasiadas por dissecação medular, e tiveram os ovários removidos. Fragmentos dos ovários foram fixados em formol tamponado, incluídos em historesina (5µm), corados em azul de toluidina, e observados em microscópio com câmera acoplada (Nikon Eclipse50i), visando confirmar o estágio de desenvolvimento ovariano, segundo PRADO *et al.* (2011).

No início do período experimental foram selecionados aleatoriamente 64 casais de *Astyanax altiparanae* provenientes do plantel de reprodutores (comprimento padrão ± desvio padrão de fêmeas e machos: 9,05 ± 0,48 cm e 6,90 ± 1,43 cm, respectivamente) divididos em dois grupos (G1 e G2). Cada grupo foi estocado em um tanque de concreto (3,00 x 1,00 x 1,00 m) revestido com geomembrana preta. Ambos os tanques foram providos de sistema de recirculação de água com utilização de filtro mecânico e biológico externo, e a oxigenação foi realizada por meio de compressor de ar.

No tanque onde foram mantidos os peixes do G1, horas de luz e temperatura da água não foram controladas, refletindo assim as condições naturais de inverno do local. Por outro lado, no G2, essas variáveis foram manipuladas de forma a apresentar valores próximos aos registrados durante a primavera, sendo que os ajustes foram realizados semanalmente.

Em relação ao total de horas de luz foram considerados fotoperíodo e crepúsculo civil. O fotoperíodo é definido como o número de horas compreendidas entre o nascer e o por do Sol (LANNA *et al.*, 2014). O crepúsculo civil, por sua vez, é o intervalo entre o momento que o centro do disco solar encontra-se seis graus abaixo do horizonte e o nascer do Sol, bem como entre o por do Sol até que o centro do disco solar atinja o mesmo ângulo. A referência baseou-se nos resultados obtidos por PRIEDE e YOUNG (1977), que levando em consideração alterações no padrão do ritmo cardíaco de *Salmo trutta* L., concluíram que o crepúsculo civil é o ponto que define a transição entre o dia e a noite nesses animais. Nesse trabalho, para determinação do número de horas de luz para o G2, foram utilizados como referência TIME AND DATE AS[®] (1995-2012), bem como para conferir os valores registrados ao longo do período experimental no caso do G1. Na manipulação dos valores da temperatura da água para o G2, foram consideradas as aferições feitas em anos anteriores (meses de setembro a dezembro, nos anos de 2009-2012) no local onde foi conduzido o experimento.

No tanque do G2 a luminosidade foi provida por lâmpadas fluorescentes cujo acionamento foi controlado por temporizadores digitais (Safe Easy). No intervalo referente ao fotoperíodo a intensidade luminosa na superfície da água foi de 1000 lux. Para diminuir o estresse ocasionado nos peixes por alterações bruscas da intensidade da luz (BROMAGE *et al.*, 2001), esta foi reduzida a 150 lux durante o crepúsculo civil (início da manhã e final da tarde). A temperatura da água foi manipulada com controlador de temperatura (Steck) e dois aquecedores (Minjiang, 500 W). Diariamente foram monitoradas as temperaturas máxima e mínima tanto para G1 quanto para G2 (Termômetro Incoterm). Na Tabela 1 estão listados os valores registrados para horas de luz e temperatura da água a cada semana do experimento para ambos os grupos.

Ademais, para G1 e G2, foi monitorado diariamente o nível de oxigênio dissolvido (G1: $5,81 \pm 0,67 \text{ mg L}^{-1}$; G2: $5,42 \pm 0,45 \text{ mg L}^{-1}$), e semanalmente o pH (G1: $6,95 \pm 0,30$; G2: $6,72 \pm 0,35$) e amônia não ionizada (G1: $1,44 \times 10^{-3} \pm 5,27 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$; G2: $1,56 \times 10^{-3} \pm 5,27 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$). Ao longo do período experimental os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente (ração comercial extrusada 36% PB, $3000 \text{ kcal kg}^{-1}$ ED).

Tabela 1. Horas de luz e temperatura da água em que foram mantidos os exemplares de *Astyanax altiparanae* do G1 e G2. Em negrito estão indicadas as semanas em que foram realizadas as coletas de dados.

Semana	Temperatura média \pm desvio-padrão ($^{\circ}\text{C}$)		Fotoperíodo Crepúsculo				Horas de luz	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
1 (03 a 07/jul)	$19,68 \pm 0,26$	$23,73 \pm 0,04$	10:50	12:26	00:48	00:45	11:38	12:23
2 (08 a 14/jul)	$19,54 \pm 0,47$	$24,04 \pm 0,30$	10:52	12:35	00:48	00:45	11:40	12:26
3 (15 a 21/jul)	$19,51 \pm 0,58$	$24,61 \pm 0,23$	10:56	12:44	00:47	00:45	11:44	12:30
4 (22 a 28/jul)	$20,34 \pm 1,63$	$24,98 \pm 0,23$	11:01	12:52	00:47	00:46	11:49	12:35
5 (29/jul a 04/ago)	$18,48 \pm 0,33$	$25,35 \pm 0,38$	11:07	13:00	00:46	00:46	11:54	12:41
6 (05 a 11/ago)	$20,22 \pm 0,61$	$26,61 \pm 0,60$	11:14	13:07	00:46	00:47	12:00	12:48
7 (12 a 18/ago)	$20,78 \pm 0,45$	$25,92 \pm 0,55$	11:21	13:13	00:45	00:48	12:07	12:55
8 (19 a 25/ago)	$22,07 \pm 0,67$	$26,66 \pm 0,72$	11:29	13:19	00:45	00:48	12:14	13:03
9 (26 a 28) ago	$22,43 \pm 1,03$	$27,15 \pm 0,43$	11:38	13:23	00:45	00:49	12:23	13:13

Na Figura 1 estão esquematizados os procedimentos de coleta de dados realizados durante o experimento. A cada 14 dias (16 e 30 de julho, 13 e 28 de agosto de 2013), oito (8) casais do G1 e oito (8) do G2, tomados ao acaso, foram submetidos à indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), totalizando 32 fêmeas e 32 machos por grupo. Dessa forma, as fêmeas receberam duas aplicações: a primeira de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ às 20:00 h, e a segunda de $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ após 6 (seis) horas (SUSSEL, 2013; comunicação pessoal¹). Os machos receberam dose única de 5 mg kg^{-1} no momento da aplicação da segunda dose das fêmeas. Após a indução, os casais permaneceram em aquários individualizados ($0,31 \times 0,50 \times 0,34 \text{ m}$), cuja temperatura da água foi mantida a mesma dos tanques de origem (Tabela 1), e foi aguardada a desova natural (indução hormonal seguida por fecundação natural, segundo REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2013).

¹Informação fornecida por Fábio Rosa Susseel no Polo APTA Centro Leste – UPD Pirassununga, São Paulo, em fevereiro de 2013.

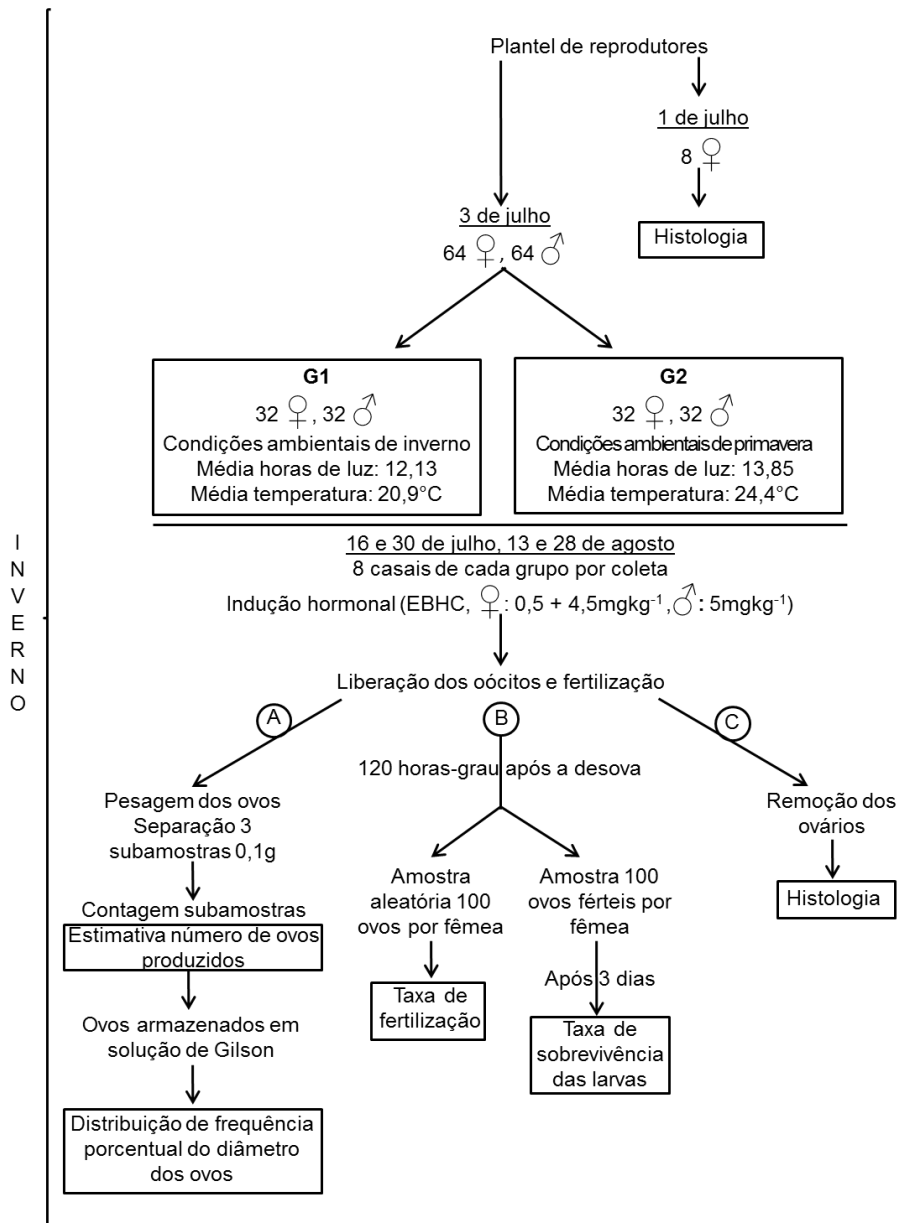


Figura 1: Procedimentos das coletas realizadas ao longo do experimento. **A.** Estimativa do número de ovos produzidos e determinação do diâmetro. **B.** Estimativa das taxas de fertilização e sobrevivência das larvas. **C.** Análise histológica.

Em G1 e G2, após a liberação dos oócitos e fertilização, os ovos foram sifonados e aferido o peso (Figura 1A). Destes ovos foram separadas três (3) subamostras de 0,10 g cada (Figura 1), contadas e estimado o número total de ovos produzido por fêmea, e o número de ovos (g fêmea)⁻¹. Estas subamostras foram armazenadas em solução de Gilson (SIMPSON, 1951), para realizar a leitura dos diâmetros (média da extensão dos eixos longitudinal e latitudinal) de

50 ovos por fêmea. Para as aferições utilizou-se estereomicroscópio com câmera acoplada (BEL, STMPRO-T-LED; software BEL View).

Após 120 horas-grau da desova e fecundação (fechamento do blastóporo, WEBER *et al.*, 2012) foram separados 100 ovos de cada fêmea para que fossem estimadas as taxas de fertilização ($TF = \text{número de ovos viáveis} \times 100 / \text{número total de ovos}$; ROMAGOSA *et al.*, 1990) (Figura 1B). Os ovos translúcidos foram considerados fertilizados, enquanto que os opacos foram considerados não fertilizados (WOYNAROVICH e HORVATH, 1983).

Em seguida, foram selecionados 100 ovos fertilizados de cada fêmea (G1: n=32; G2: n=32) (Figura 1B), e transferidos para aquários (0,31 x 0,50 x 0,34 m) com fluxo constante de água ($2,32 \times 10^{-2} \text{ L s}^{-1}$). Os ovos do G1 foram mantidos em água de temperatura ambiente, enquanto que os do G2 em água aquecida, na mesma temperatura em que ocorreu a desova (Tabela 1). Após três (3) dias, foi contado o número de larvas, visando assim determinar o percentual da taxa de sobrevivência ($TS = \text{número de larvas} \times 100 / \text{número de ovos fertilizados}$; ROMAGOSA *et al.*, 1990).

Após a liberação dos oócitos, foram removidos fragmentos da porção mediana dos ovários de todas as fêmeas induzidas, conforme descrito anteriormente (Figura 1C), com o intuito de identificar em que fase se encontravam os oócitos remanescentes (não liberados), segundo a dinâmica da oogênese descrita por GARCIA *et al.* (2001).

Os resultados estão apresentados como a média \pm desvio padrão. Os dados foram primeiramente testados em relação à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste F. Sendo atendidas tais premissas, foi realizado teste t de Student. No caso de dados não paramétricos foi utilizado o teste de Mann-Whitney; para a proporção de fêmeas que desovaram empregou-se o teste de diferença entre duas proporções. Todas as análises estatísticas foram realizadas com os softwares Past 2.17c e Statistica[®] 8.0, tendo sido aplicado o nível de significância (p) de 0,05.

Posteriormente, foi realizada análise de custos, receita e lucro resultantes da produção de larvas a partir de matrizes mantidas nos regimes de horas de luz e temperatura da água dos G1 e G2 (hipotético). Nos cálculos, foi utilizado o valor médio do dólar no ano de 2013 = R\$2,157 US\$⁻¹, e foram

considerados apenas os gastos com a produção, não levando em conta os investimentos e, conseqüentemente, a depreciação dos bens duráveis. Para tal, foi suposta uma situação em que fossem utilizadas estruturas semelhantes às do presente experimento, que já estivessem disponíveis na propriedade, estocando 125 casais. Admitiu-se que o plantel seria transferido para essas estruturas hipotéticas no início do mês de julho, assim como realizado no experimento. Os peixes seriam induzidos em dois lotes com intervalo de 15 dias, sendo o primeiro 15 dias após o início da manipulação das condições ambientais, totalizando assim um mês. Visando estimar os custos de produção mensal, foi adaptada a metodologia proposta pelo Instituto de Economia Agrícola de São Paulo (MATSUNAGA *et al.*, 1976; MARTIN *et al.*, 1994). No cálculo do custo operacional efetivo (COE) foram consideradas as despesas com funcionário, energia elétrica, ração e materiais para indução hormonal (hipófise, seringa, agulhas e soro fisiológico) (Tabela 2). Nesse cálculo, não foram consideradas as despesas referentes à embalagem, comercialização, marketing e impostos incidentes na venda. O custo operacional total (COT) foi composto pela soma do COE mais encargos sociais advindos da contratação de mão-de-obra (contribuição ao INSS, férias e outras despesas), que foram considerados 43% do valor do salário (AYROZA *et al.*, 2011) (Tabela 2). Para os dados de porcentagem de respostas à indução hormonal, número de ovos (g fêmea)⁻¹, taxa de fertilização e sobrevivência das larvas, foram considerados os valores obtidos neste trabalho. Ademais, foi calculada a receita bruta (RB) como o produto do número de larvas obtido para cada grupo e o preço de venda, tendo sido considerado o preço de comercialização de larvas de três dias (1000 unidades: US\$ 4,636, assim, $RB = n \text{ larvas} \times 4,636 / 1000$). O lucro operacional (LO) foi calculado como a diferença entre RB e COT ($LO = RB - COT$), e a margem bruta (MB), como a margem de lucro obtida em relação ao COT, sendo $MB = (LO / COT) \times 100$.

Tabela 2. Itens e valores do custo operacional efetivo (COE) e total (COT) da manutenção de matrizes e produção de larvas de *Astyanax altiparanae* submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água.

Itens COE	Consumo mensal	Custo unitário (US\$)	Custo mensal (US\$)
Funcionário*	-	-	48,981
Energia elétrica (regime G1)	88,00 kWh	0,213	18,744
Energia elétrica (regime G2)	465,20 kWh	0,213	99,088
Ração	6,69 x 10 ⁻¹ kg	1,052	0,704
Indução hormonal (hipófise, seringa, agulha e soro fisiológico)			7,025
COE (US\$)			
Regime G1			75,454
Regime G2			155,798
COT (US\$)			
Regime G1			96,516
Regime G2			176,860

*Despesa com um funcionário de 6 horas de dedicação semanal, considerando-se o salário mínimo do estado de São Paulo (US\$ 375,522).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser visualizado na Figura 2, foi constatado que todas fêmeas provenientes do plantel de reprodutores, as quais foram analisadas antes da instalação do experimento, apresentaram ovários em estágio maduro (Figura 2A). Histologicamente, verificou-se a abundância de oócitos maduros (Figura 2B), cujo citoplasma apresentava-se repleto de grânulos de vitelo de formato esférico (Figura 2C), além de oócitos primários com citoplasma basófilo, núcleo volumoso com inúmeros nucléolos, corroborando com os relatos de PRADO *et al.* (2011).

A identificação do estágio de maturação ovariano assegura o momento adequado para a aplicação hormonal, uma vez que tanto realizá-la antecipadamente ou tardiamente compromete o sucesso reprodutivo (FELIZARDO *et al.*, 2012; LEONARDO *et al.*, 2004; BITTENCOURT *et al.*, 2012). A administração de hormônios é realizada em fêmeas que apresentam oócitos que completaram a vitelogênese, sendo que o papel é garantir a maturação final e a desova (ROMAGOSA, 2010).

Em *Astyanax altiparanae* a desova pode ocorrer espontaneamente em cativeiro (GARUTTI, 2003), entretanto, a técnica de hipofisacção é bastante utilizada, garantindo assim maior produção de ovos, e também que seja possível controlar os reprodutores e o momento da desova (FELIZARDO *et al.*, 2012). A indução com EBHC vem sendo amplamente empregada na reprodução de peixes nativos (SANCHES *et al.*, 2011; ARANTES *et al.*, 2011; FREITAS *et al.*, 2013).

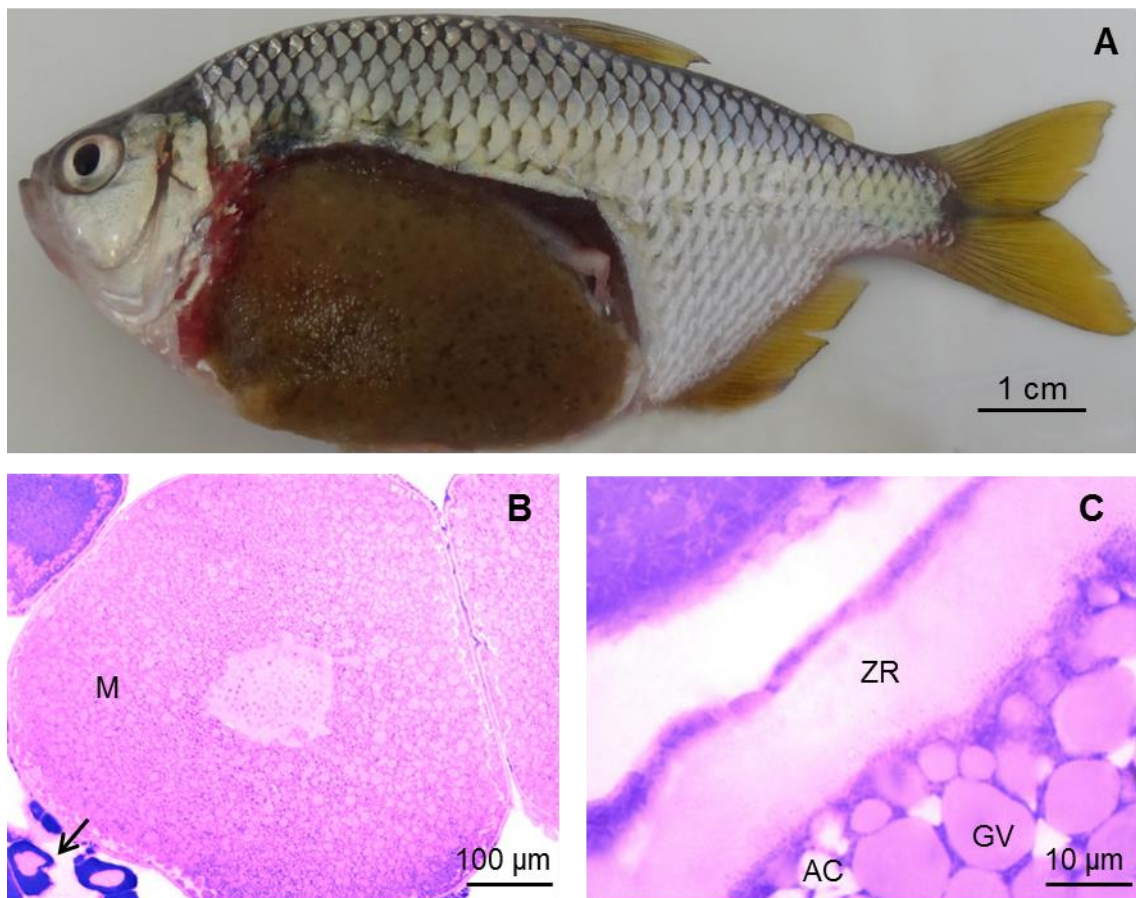


Figura 2: **A.** Fêmea de *Astyanax altiparanae* com ovários em estágio maduro. **B.** Oócitos maduro (M) e primário (seta). **C.** Zona radiata (ZR), alvéolo cortical (AC) e grânulos de vitelo (GV).

Comparativamente, a proporção de fêmeas do G2 que responderam de forma positiva à indução hormonal foi superior ao G1 (81,25 e 9,38%, respectivamente; $p=0,0000$; Tabela 3), o que pode ser demonstrado pelo número total de ovos produzidos (G2 = 220.250 e G1 = 8.930; Tabela 3).

Tabela 3: Parâmetros reprodutivos de *Astyanax altiparanae* submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água.

Parâmetros reprodutivos	G1	G2
Respostas à indução hormonal (%)	9,38	81,25*
Número de ovos (g fêmea) ⁻¹	262,81 ± 179,42	710,95 ± 335,59*
Produção total de ovos (n)	8.930	220.250
Taxa de fertilização (%)	58,33 ± 38,42	84,85 ± 18,35
Diâmetro dos ovos (µm)	608,16 ± 22,57*	603,20 ± 24,34
Taxa de sobrevivência larval (%)	22,00 ± 38,11	34,65 ± 28,75

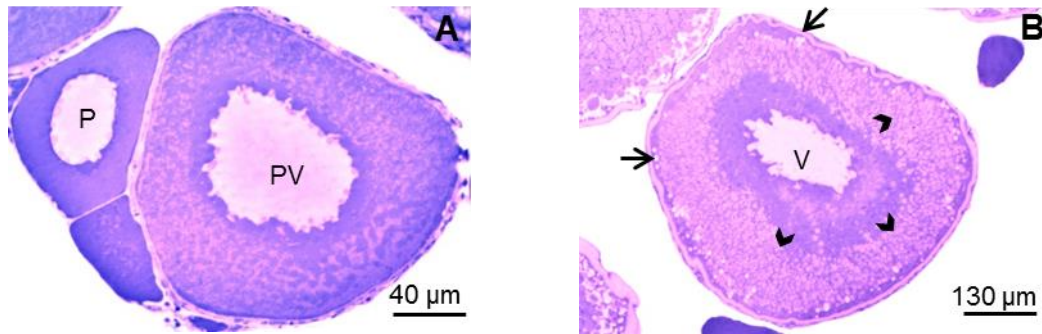
*Indica diferença significativa entre os grupos G1 e G2 ($p < 0,05$)

Quanto ao número de ovos (g fêmea)⁻¹, verificou-se que G2 apresentou valor significativamente superior ao G1 (710,95 ± 335,59 e 262,81 ± 179,42, respectivamente; teste t, $p=0,0328$; Tabela 3). Esses valores corroboram os relatos de GARUTTI (2003) de que a fecundidade relativa da espécie pode variar entre 180 e 1.400 ovos (g fêmea)⁻¹ e, SATO *et al.* (2006) que observaram 678 ovos (g fêmea)⁻¹. Em relação ao tamanho dos ovos, o valor do diâmetro médio do G1 foi superior ao do G2 (608,16 ± 22,57 e 603,20 ± 24,34 µm, respectivamente; teste t, $p=0,0042$; Tabela 3). O menor diâmetro dos ovos do G2 pode ser associado ao maior número de ovos (g fêmea)⁻¹, dado que segundo YOUSEFIAN (2011) existe correlação negativa entre tais parâmetros.

Não foram verificadas diferenças entre os grupos para os valores da taxa de fertilização dos ovos (G1: 58,33 ± 38,42%; G2: 84,85 ± 18,35%; Tabela 3) e da taxa de sobrevivência das larvas (G1: 22,00 ± 38,11%, G2: 34,65 ± 28,75%; Tabela 3) (Mann-Whitney, $p=0,0853$ e $p=0,2434$ respectivamente). Tais parâmetros são importantes na avaliação da produção dos ovos, estando relacionados ao número de larvas produzidas (MYLONAS e ZOHAR, 2007). Assim, no caso de *Astyanax altiparanae*, a manipulação de horas de luz e temperatura não influenciou nos percentuais dessas taxas. Tradicionalmente é sugerido que ovos maiores teriam maior probabilidade de completar o desenvolvimento embrionário, originando larvas aptas a sobreviver (LAHNSTEINER *et al.*, 2008; MIGAUD *et al.*, 2010). Por outro lado, para *Astyanax altiparanae* essa relação não foi confirmada, e corrobora os relatos de BROMAGE *et al.* (1992) para *Oncorhynchus mykiss* e RÉGNIER *et al.* (2013) para *Salmo trutta*.

No que diz respeito à influência da temperatura da água durante a incubação dos ovos e larvas há divergências na literatura. LONGO e NUÑER (2010) e SULIS-COSTA *et al.* (2013) não verificaram diferenças nos valores das taxas de sobrevivência de larvas de *Rhamdia quelen* mantidas em diferentes temperaturas (19, 25 e 30°C; 19, 24 e 29°C, respectivamente). Por outro lado, para *Heterobranchus longifilis* foram observadas taxas de sobrevivência superiores (59,2 a 80,4%) quando os ovos foram mantidos em 25 e 27°C do que nas temperaturas de 20, 23, 29 e 32°C (<21,2°C) (NWOSU e HOLZLÖHNER, 2000). Os resultados obtidos podem indicar que os ovos de *Astyanax altiparanae* apresentam ampla faixa de tolerância térmica, tendo completado o desenvolvimento em temperaturas entre 20,2 e 27,2°C.

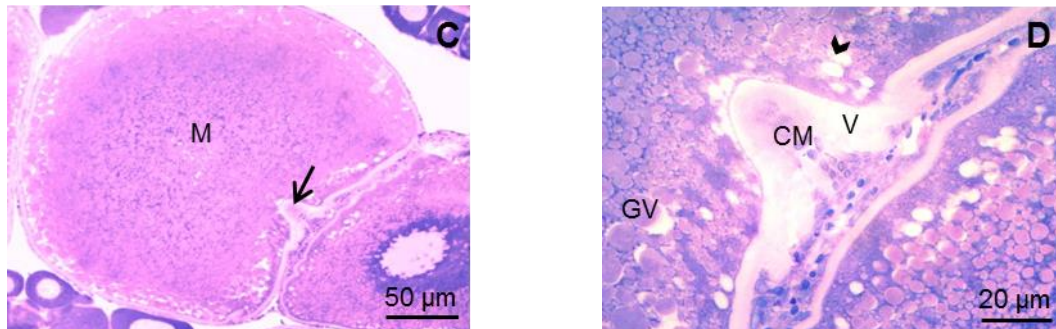
Morfologicamente, os oócitos do G1 e G2 não apresentaram diferenças estruturais. Nas fêmeas que responderam positivamente à indução hormonal, em ambos os grupos, foram abundantes oócitos primários (Figura 3A), sendo que em G1 também foram observados oócitos vitelogênicos (Figura 3B), e em G2, pré-vitelogênicos (Figura 3A). Oócitos atrésicos foram representativos nas fêmeas do G1, estando presentes nas fases inicial, intermediária e final (Figuras 3E, 3F e 3G, respectivamente), entretanto foram abundantes nas duas últimas. Ademais, foram encontrados em G2 raros oócitos maduros (Figura 3C), sendo que em alguns deles foi possível observar no polo animal a presença do aparelho micropilar, constituído pelo vestíbulo e canal micropilar (Figura 3D), como descrito por RIZZO e GODINHO (2003). Segundo KUNZ (2004), esta estrutura é formada a partir de uma célula folicular modificada (célula micropilar), que emite um prolongamento responsável por deixar aberto o canal, permitindo o acesso do espermatozoide fertilizante diretamente à membrana oocitária. Na Figura 4A, no interior do complexo folicular pós-ovulatório, é possível observar a célula micropilar, corroborando com os relatos de DRUMMOND *et al.* (2000) para *Astyanax bimaculatus lacustris*.



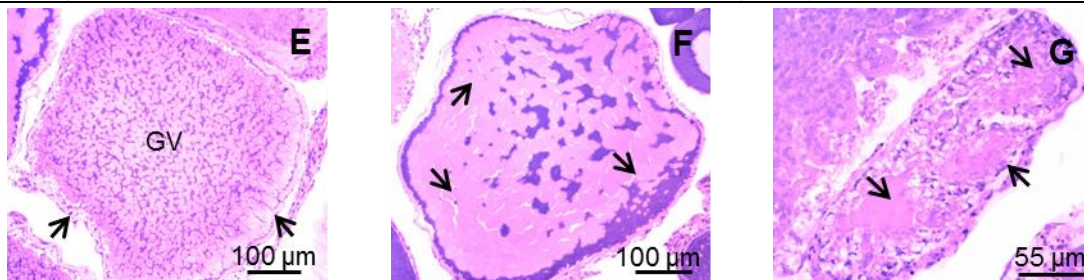
Primário (P): Pequenos, arredondados ou triangulares, citoplasma basófilo, núcleo central volumoso com nucléolos esféricos na periferia, envolvidos por células pré-foliculares.

Pré-vitelogênico (PV): Citoplasma menos basófilo, núcleo central com contorno irregular e nucléolos esféricos na periferia, zona radiata e células foliculares presentes.

Vitelogênico (V): Citoplasma com notável aumento de volume, alvéolos corticais na periferia (seta grossa), deposição de grânulos de vitelo (cabeça de seta), núcleo central, zona radiata evidente.



Maduro (M): Citoplasma repleto de grânulos de vitelo esféricos (GV), presença de alvéolos corticais (cabeça de seta), em geral núcleo periférico, células foliculares achatadas, zona radiata espessa com estrias pouco evidentes, presença do aparelho micropilar (seta) formado pelo vestíbulo (V) e canal micropilar (CM).



Atresia inicial: formato irregular, grânulos de vitelo (GV) começam a se fundir, zona radiata espessa e com dobras (seta).

Atresia intermediária: formato ondulado, grânulos de vitelo fundem-se formando uma massa (seta), o núcleo desaparece, células foliculares hipertrofiadas perdendo contorno.

Atresia final: poucos grânulos de vitelo (setas), camada de células foliculares invaginam-se, zona radiata praticamente desaparece.

Figura 3: Estádios de desenvolvimento oocitário em *Astyanax altiparanae*. **A.** Oócitos primário (P) e pré-vitelogênico (PV). **B.** Oócito vitelogênico (V). **C.** Oócito maduro (M). **D.** Aparelho micropilar em detalhe. **E.** Oócito em atresia inicial. **F.** Oócito em atresia intermediária. **G.** Oócito em atresia final.

Na sequência, no G2 foi observada alta incidência de folículos pós-ovulatórios (Figuras 4A e 4B). Essas estruturas altamente vascularizadas são formadas pelo complexo folicular pós-ovulatório contorcido (camada granulosa com células hipertrofiadas, membrana basal e teca), que se projeta irregularmente em direção ao lúmen (cavidade vazia) indicando que a ovulação ocorreu (ROMAGOSA *et al.*, 2005; MCMILLAN, 2007; WILDNER *et al.*, 2013). Por outro lado, nas fêmeas do G1 essas estruturas, praticamente não foram encontradas, refletindo que o número de ovos (g fêmea)⁻¹ foi 63,03% inferior ao G2.

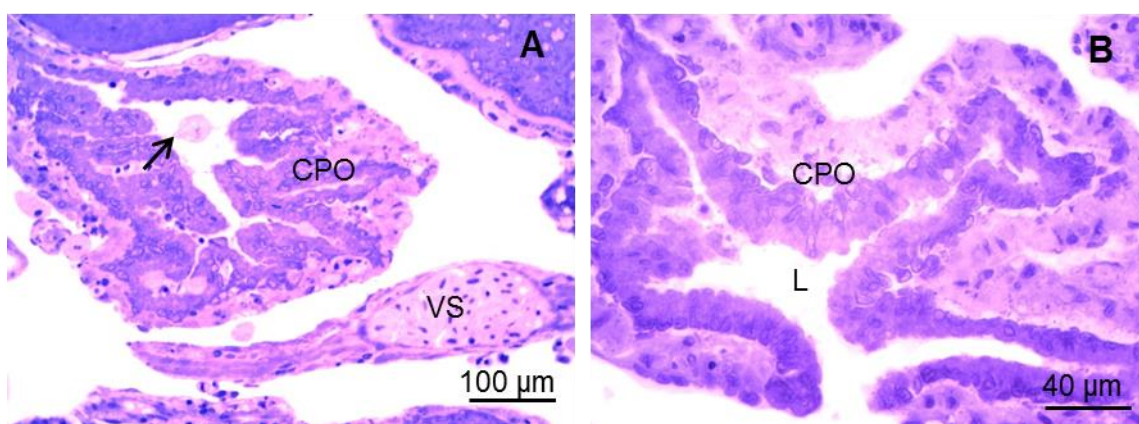


Figura 4. A. Complexo folicular pós-ovulatório (CPO) observando-se no interior do lúmen a célula micropilar (seta), e vaso sanguíneo adjacente (VS). **B.** Complexo folicular pós-ovulatório (CPO) em detalhe, observando-se o lúmen vazio (L).

Nas fêmeas que não responderam à indução hormonal foram abundantes, nos dois grupos, oócitos primários. Nas fêmeas do G1, foram predominantes oócitos em vitelogênese, entretanto, a maioria se encontrava nos estádios inicial e intermediário de atresia. Por outro lado, no G2, foram observados oócitos em pré-vitelogênese, vitelogênese (Figura 3B) e maduros, sendo que os dois últimos apresentavam-se em atresia intermediária e final. Modificações no desenvolvimento dos oócitos que levam a esse processo de atresia podem estar associadas a situações de estresse como manejo inadequado (SCHEREK *et al.*, 2001), restrição alimentar (CORRIERO *et al.*, 2011), exposição a substâncias tóxicas (MAGAR e BIAS, 2013; GABER *et al.*, 2013; NARAYANASWAMY e MOHAN, 2014), além de condições de horas de luz e temperatura desfavoráveis à maturação e desova (LINARES-CASENAVE

et al., 2002; MIGAUD *et al.*, 2003; BÁEZ *et al.*, 2011). Os dois últimos fatores podem ter resultado na alta incidência de oócitos atrésicos no G1, provavelmente responsáveis pela interrupção do processo de vitelogênese.

Segundo MIGAUD *et al.* (2010) alterações nas condições de horas de luz e temperatura da água parecem ser os fatores primordiais na determinação do período reprodutivo dos peixes. Em espécies tropicais, a época da reprodução coincide com períodos de dias longos e temperaturas elevadas (VAZZOLER *et al.*, 1997), enquanto que o processo de atresia está associado a dias mais curtos e temperaturas inferiores (LEONARDO *et al.*, 2006).

É relatado na literatura que horas de luz e temperatura da água atuam em momentos distintos do ciclo reprodutivo. De acordo BROMAGE *et al.* (2001), MAÑANÓS *et al.* (2008) e CARRILLO *et al.* (2009) variações nas horas de luz sincronizam o relógio endógeno dos peixes com as alterações ambientais, funcionando como sinais para que os animais se preparem para a estação reprodutiva, determinando assim os ciclos anuais. Dessa forma, as horas de luz estimulariam simultaneamente a atividade reprodutiva entre os peixes da mesma espécie, e o ajuste do ritmo de desenvolvimento gonadal de acordo com as condições externas naturais (CHEMINEAU *et al.*, 2007). Por sua vez, a temperatura da água parece ser responsável por restringir a reprodução a uma determinada época do ano (CARRILLO *et al.*, 2009). Isto também é observado em animais mantidos em cativeiro, onde a temperatura é considerada um fator crucial para que ocorra a liberação dos gametas após a indução hormonal (MYLONAS *et al.*, 2010).

A influência da manipulação de horas de luz e temperatura da água na reprodução “out-of-season” foi descrita para espécies de peixes tropicais marinhos. GUERRERO-TORTOLERO *et al.* (2010) obtiveram desovas de inverno de *Lutjanus argentiventris* quando as matrizes foram mantidas em ambiente com regime de horas de luz anual condensado a um ciclo de três meses e temperatura de 27°C. Fêmeas de *Epinephelus merra* mantidas em condições de dias longos (14 horas luz - L: 10 horas escuro - E) e temperatura da água elevada (27°C) apresentaram oócitos vitelogênicos em períodos distintos dos naturais (KANEMARU *et al.*, 2012). Da mesma forma, em peixes tropicais de água doce, SUNDARARAJ e SEHGAL (1970) observaram aparecimento precoce de oócitos vitelogênicos em *Heteropneustes fossilis*

expostas a dias longos (14L:10E) ou crescentes (variando entre 11L:13E e 14L:10E) e temperatura constante (25°C). GIANNECCHINI *et al.* (2012) constataram que à temperatura constante (28°C) e dias longos (16L:8E; 12L:12E) promoveram desempenho reprodutivo satisfatório para *Betta splendens* quanto, ao número de desovas e de ovos produzidos (g fêmea)⁻¹.

Apesar do sucesso no controle do período reprodutivo de peixes por meio da manipulação das condições ambientais, são escassos estudos que considerem aspectos financeiros da produção “out-of-season” de ovos e larvas. A análise econômica da obtenção de desovas de inverno de *Astyanax altiparanae* revelou que a receita bruta obtida com a venda das larvas, segundo as condições hipotéticas propostas, seria de US\$ 21,483 para matrizes mantidas em regime de luz e temperatura semelhantes ao G1, contra US\$ 1.153,418 para matrizes no regime do G2 (Tabela 4). Apesar do regime G2 ter apresentado custo operacional total superior (Tabela 2) foi vantajoso em condições experimentais, dado que houve incremento de 5.268,98% na receita bruta e, com isso, o lucro operacional e a margem bruta foram positivos (US\$ 976,558 e 552,16%, respectivamente), ao contrário do verificado no regime G1 (US\$ -75,033 e -77,74%, respectivamente). Além da receita extra obtida ao longo do período, a utilização das estruturas disponíveis na propriedade seriam otimizadas, evitando que estas permaneçam ociosas (DUNCAN *et al.*, 2013).

Tabela 4. Total estimado de ovos e larvas de *Astyanax altiparanae* produzidos a partir de matrizes submetidas a diferentes condições de horas de luz e temperatura da água, e indicadores econômicos.

Dados	Regime G1	Regime G2
Total estimado de ovos (n)	36.115	846.230
Total estimado de larvas (n)	4.634	248.796
Receita bruta (US\$)	21,483	1.153,418
Lucro operacional (US\$)	-75,033	976,558
Margem bruta (%)	-77,74	552,16

Regime G1: Sem controle das horas de luz e da temperatura da água.

Regime G2: Horas de luz e temperatura da água manipuladas de forma a apresentar valores próximos aos registrados durante a primavera.

Sumarizando, as diferenças observadas entre o G1 e G2 quanto aos parâmetros reprodutivos (liberação, número, fertilização, diâmetro dos ovos e sobrevivência larval) juntamente com a análise econômica indicam a aplicabilidade dos resultados. As estratégias utilizadas (manipulação de horas de luz e temperatura) podem ser associadas às atuais práticas de manejo reprodutivo estendendo a produção de ovos e larvas por maior período do ano. Estudos são necessários para a determinação de estruturas de criação a serem adotadas que estejam próximas da realidade dos produtores, além de protocolos de manejo que garantam a sobrevivência das pós-larvas (após a abertura da boca).

4. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 2013/13715-8) pela bolsa de Mestrado concedida, à Dra. Maria Letizia Petesse (Pós-doutoranda do Instituto de Pesca) pelo auxílio na análise estatística dos dados, e ao Dr. João Donato Scorvo Filho (Pesquisador Científico do Polo APTA Leste Paulista) pelo auxílio na análise econômica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANTES, F.P.; SANTOS, H.B.; RIZZO, E.; SATO, Y.; BAZZOLI, N. 2011 Influence of water temperature on induced reproduction by hypophysation, sex steroids concentrations and final oocyte maturation of the “curimatã-pacu” *Prochilodus argenteus* (Pisces: Prochilodontidae). *General and Comparative Endocrinology*, Orland, 172(3): 400-408.
- AYROZA, L.M.S.; ROMAGOSA, E.; AYROZA, D.M.M.R.; SCORVO FILHO, J.D.; SALLES, F.A. 2011 Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40(2): 231-239.
- BÁEZ, V.H.; AIGO, J.C.; CUSSAC, V.E. 2011 Climate change and fish culture in Patagonia: present situation and perspectives. *Aquaculture Research*, Oxford, 42(6): 787-796.
- BAIRWA, M.K.; SAHARAN, N.; RAWAT, K.D.; JAKHAR, J.K.; BERA, A. 2013 Photoperiod, melatonin and its importance in fish reproduction. *Central European Journal of Experimental Biology*, Warsaw, 2(4): 7-15.
- BITTENCOURT, F.; SOUZA, B.E.; LUI, T.A.; BORELLA, M.I.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; ROMAGOSA, E. 2012 Protein diets promote the maturation of oocytes and spawning of *Piaractus mesopotamicus* kept in cages. *Journal of Applied Ichthyology*, Berlin, 28(6): 886-893.
- BROMAGE, N.; JONES, J.; RANDALL, C.; THRUSH, M.; DAVIES, B.; SPRINGATE, J.R.C.; DUSTON, J.; BARKER, G.; 1992 Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam 100: 141–166.
- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. 2001 The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonina. *Aquaculture*, Amsterdam, 197(1–4): 63–98.
- CARRILLO, M.; ZANUY, S.; BAYARRI, M.J. 2009 El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precocidad. In: ESTÉVEZ, M.A.C. *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura. p.175-246.
- CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; BRILLARD, J.P.; FOSTIER, A. 2007 Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, Cambridge, 1(3): 419–432.
- CORRIERO, A.; ZUPA, R.; BELLO, G.; MYLONAS, C.C.; DEFLORIO, M.; GENOVESE, S.; BASILONE, G.; BUSCAINO, G.; BUFFA, G.; POUSIS, C.; DE METRIO, G.; SANTAMARIA, N. 2011 Evidence that severe acute stress and starvation induce rapid atresia of ovarian vitellogenic follicles in Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (L.) (Osteichthyes: Scombridae). *Journal of Fish Diseases*, Stirling, 34: 853–860.
- DRUMMOND, C.D.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; SATO, A. 2000 Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. *Journal of Experimental Zoology*, New York, 287(2): 176-182.
- DUNCAN, N.J.; SONESSON, A.K.; CHAVANNE, H. 2013 Principles of finfish broodstock management in aquaculture: control of reproduction and genetic improvement. In: ALLAN, G.; BURNELL, G. *Advances in aquaculture hatchery technology*. Cambridge: Woodhead Publishing. p.23-75.
- FELIZARDO, V.O.; MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; LÓPEZ, P.A.; FREITAS, R.T.F.; FERREIRA, M.R. 2012 Effect of timing of hormonal induction

on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, New York, 77: 1570–1574.

FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; FREITAS, M.B.D. 2014 Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the Aquaculture Society*, Baton Rouge, 45(1): 28-34.

FREITAS, L.J.A.; PRADO, P.S.; ARANTES, F.P.; SANTIAGO, K.B.; SATO, Y.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. 2013 Reproductive biology of the characid dourado *Salminus franciscanus* from the São Francisco River, Brasil. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, 139(1-4): 145-154.

GABER, H.S.; EL-KASHEIF, M.A.; IBRAHIM, S.A.; AUTHMAN, M.M.N. 2013 Effect of water pollution in el-rahawy drainage canal on hematology and organs of freshwater fish *Clarias gariepinus*. *World Applied Sciences Journal*, Dubai, 21(3): 329-341.

GARCIA, J.D.A.; CHINI, H.A.S.; MAISTRO, E.L.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. 2001 Dynamics and cytochemistry of oogenesis in *Astyanax fasciatus* (Cuvier) (Teleostei, Characiformes, Characidae) from Rio Sapucaí, Minas Gerais State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 18(4): 1057-1064.

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

GIANNECCHINI, L.G.; MASSAGO, H.; FERNANDES, B.K. 2012 Effects of photoperiod on reproduction of Siamese fighting fish *Betta splendens*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 41(4): 821-826.

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

GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. 2014 The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, Oxford, 45(2): 195–203.

GUERRERO-TORTOLERO, D.A.; CAMPOS-RAMOS, R.; BURGOS-ACEVES, M.A.; PÉREZ-URBIOLA, J.C.; COLADO-DURÁN, G. 2010 Effects of compressed seasonally changing day-length cycles on spawning performance, production of viable eggs and levels of vitellogenin in plasma in female yellowtail snapper *Lutjanus argentiventris*. *Journal of Fish Biology*, London, 77(10): 2285–2297.

KANEMARU, T.; NAKAMURA, M.; MURATA, R.; KUROKI, K.; HORIE, H.; UCHIDA, K.; SENTHILKUMARAN, B.; KAGAWA, H. 2012 Induction of sexual maturation of the female honeycomb grouper, *Epinephelus merra*, in the non-breeding season by modulating environmental factors with GnRH analogue implantation. *Aquaculture*, Amsterdam, 358-359: 85-91.

KUNZ, Y.W. 2004 *Developmental biology of teleost fishes*. Dordrecht: Springer. 636p.

LAHNSTEINER, F.; SOARES, F.; RIBEIRO, L.; DINIS, M.T. 2008 Egg quality determination in teleost fish. In: CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRAEZ, P. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. Boca Raton: Taylor & Francis Group. 149-180p.

LANNA, E.; PARANHOS, R.; PAIVA, P.C.; KLAUTAU, M. 2014 Environmental effects on the reproduction and fecundity of the introduced calcareous sponge *Paraleucilla magna* in Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Ecology*, Berlin, 35(3): 1-13.

- LEONARDO, A.F.G.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M.I.; BATLOUNI, S.R. 2004 Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). *Aquaculture*, Amsterdam, 240(1-4): 451-461.
- LEONARDO, A.F.G.; ROMAGOSA, E.; BATLOUNI, S.R.; BORELLA, M.I. 2006 Occurrence and significance of ovarian and follicular regression in cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766): a histology approach. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, 58(5): 831-840.
- LINARES-CASENAVE, J.; VAN EENENNAAM, J.P.; DOROSHOV, S.I. 2002 Ultrastructural and histological observations on temperature-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. *Journal of Applied Ichthyology*, Berlin, 18(4-6): 382-390.
- LONGO, R.S.; NUÑER, A.P.O. 2010. Temperatures for fertilization and hatching and their influence on determining the sex ratio of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, Maringá, 32(2): 107-111.
- MAGAR, R.S.; BIAS, U.E. 2013 Histopathological impact of malathion on the ovary of the fresh water fish *Channa punctatus*. *International Research Journal of Environment Sciences*, Indore, 2(3): 59-61.
- MAÑANÓS, E.; DUNCAN, N.; MYLONAS, C. 2008 Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRAEZ, P. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. Boca Raton: Taylor & Francis Group. p.3-80.
- MARTIN, N.B.; SERRA, R.; ANTUNES, J.F.G.; OLIVEIRA, M.D.M.; OKAWA, H. 1994 Custos: Sistema de custo de produção agrícola. *Informações Econômicas*, São Paulo, 24(9): 97-122.
- MARTÍNEZ, E.A. 2000 Reproducción en peces teleósteos. Estrategias reproductivas e influencias de los factores ambientales en los ciclos reproductivos. In: NAVARO, S.Z.; DÍAZ, B.A.; HERNÁNDEZ, M.P.G. *Acuicultura I: Biología marina. Reproducción y desarrollo*. Murcia: Servicio de Publicaciones, Universidad de Murcia. p.49-62.
- MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P.F.; TOLEDO, P.E.N.; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. 1976 Metodologia de custo de produção utilizado pelo IEA. *Agricultura em São Paulo*, São Paulo, 23: 123-139.
- MCMILLAN, D.B. 2007 Fish histology, female reproductive systems. Dordrecht: Springer. 598p.
- MIGAUD, H.; DAVIE, A.; TAYLOR, J.F. 2010 Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *Journal of Fish Biology*, London 76(1): 27-68.
- MIGAUD, H., MANDIKI, R., GARDEUR, J.N., KESTEMONT, P., BROMAGE, N.R., FONTAINE, P. 2003 Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. *Fish Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, 28(1-4): 395-397.
- MYLONAS, C.C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. 2010 Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, Orland, 165(3): 516-534.
- MYLONAS, C.C.; ZOHAR, Y. 2007 Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. In: BABIN, P.J.; CERDÀ, J.; LUBZENS, E. *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*. Dordrecht: Springer. p.437-474.

- NARAYANASWAMY, S.Y.; MOHAN, M.R. 2014 Histopathological studies on hypophysis and ovary of fresh water fish *Glossogobius giurus* (Hamilton). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Sagar, 3(8): 841-862.
- NWOSU, B. F. M.; HOLZLÖHNER, S. 2000 Influence of temperature on egg hatching, growth and survival of larvae of *Heterobranchus longifilis* Val. 1840 (Teleostei: Clariidae). *Journal of Applied Ichthyology*, Berlin, 16(1): 20–23.
- PANKHURST, N.W.; PORTER, M.J.R. 2003 Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, 28: 385–389.
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. 2010 Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Editora da UFSM. p.105-120.
- PRADO, P.S.; SOUZA, C.C.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. 2011 Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, 74(7): 1879-1887.
- PRIEDE, I.G.; YOUNG, A.H. 1977 The ultrasonic telemetry of cardiac rhythms of wild brown trout (*Salmo trutta* L.) as an indicator of bio-energetics and behavior. *Journal of Fish Biology*, London, 10(4): 299-318.
- RAMOS, J.; RODRÍGUEZ, L.; ZANUY, S.; CARRILLO, M. 2002 Influencia del fotoperíodo sobre la aparición de la primera madurez sexual, comportamiento reproductivo y calidad de puestas en hembras de lubina *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, Madrid, 18(1-4): 175-182.
- RÉGNIER, T.; BOLLIET, V.; GAUDIN, P.; LABONNE, J. 2013 Bigger is not always better: egg size influences survival throughout incubation in brown trout (*Salmo trutta*). *Ecology of Freshwater Fish*, Copenhagen, 22(2): 169-177.
- REYNALTE-TATAJE, D.A.; LOPES, C.A.; ÁVILA-SIMAS, S.; GARCIA, J.R.E.; ZANIBONI-FILHO, E. 2013 Artificial reproduction of neotropical fish: extrusion or natural spawning? *Natural Science*, 5(7): 1-6.
- RIZZO, E.; GODINHO, H.P. 2003 Superfície de ovos de peixes Characiformes e Siluriformes. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas. p.115-132.
- ROMAGOSA, E. 2010 Reproductive status in females of the Brazilian catfish, *Pseudoplatystoma fasciatum* reared in cages. *Journal of Applied Ichthyology*, Berlin, 26(5): 806–811.
- ROMAGOSA, E.; BATLOUNI, S.R.; BORELLA, M.I.; LEONARDO, A.F.G. 2005 Involução dos folículos pós-ovulatórios em *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces, Teleostei). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 31(2): 129-135.
- ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M. 1990 Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, Amsterdam, 86: 105-110.
- SANCHES, E.A.; NEUMANN, G.; TOLEDO, C.P.R.; BOMBARDELLI, R.A.; PIANA, P.A.; ROMAGOSA, E. 2011 Temperature and storage period over spermatogenic parameters of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). *Aquaculture Research*, Oxford, 44(4): 534-541.
- SATO, Y.; SAMPAIO, E.V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J.R. 2006 Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae

(Osteichthyes, Characiformes) da Bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 23(1): 267-273.

SCHEREK, C.B.; CONTRERAS-SANCHEZ, W.; FITZPATRICK, M.S. 2001 Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, Amsterdam, 197(1-4): 3-24.

SIMPSON, A.C. 1951 The fecundity of the plaice. *Fish Investigation*, London, 5: 1-27.

SULIS-COSTA, R.; JIMENEZ, J.E.; WEINGARTNER, M.; NUÑER, A.P.O. 2013 Efeito da temperatura da água na fase inicial de vida e na proporção sexual do jundiá. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 39(4): 379-388.

SUNDARARAJ, B.I.; SEHGAL, A. 1970 Responses of the pituitary and ovary of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) to accelerated light regimen of a decreasing followed by an increasing photoperiod during the postspawning period. *Biology of Reproduction*, Champaign, 2(3): 425-434.

TIME AND DATE AS[®]. *Sun & Moon: Sunrise & Sunset times*. Disponível em: <<http://www.timeanddate.com>>. Acesso em 28 abr. 2014.

VAZZOLER, A.E.A.M.; LIZAMA, M.L.A.P.; INADA, P. 1997 Influências ambientais sobre a sazonalidade reprodutiva. In: VAZZOLER, A.E.A.M.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. *A Planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*. Maringá, EDUEM. p.267-280.

WEBER, A.A.; ARANTES, F.P.; SATO, Y.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. 2012 Oocyte adhesiveness and embryonic development of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Characidae). *Zygote*, Cambridge, 21(2): 198-202.

WILDNER, D.D.; GRIER, H.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. 2013 Female germ cell renewal during the annual reproductive cycle in Ostariophysians fish. *Theriogenology*, New York, 79(4): 709-724.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. 1983 The artificial propagation of warm-water finfishes - A manual for extension. Traduzido por Chama, V.L.M. Brasília: Escopo. 220p.

YASUI, G.S.; SENHORINI, J.A.; SHIMODA, E.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L.S.O.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; SILVA, L.A. 2014 Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*, Cambridge, 13:1-7.

YOUSEFIAN, M. 2011 The relationship between egg size, fecundity and fertilizations rate in *Acipenser persicus*, *Rutilus ferissi kutum* and *Cyprinus carpio*. *World Applied Sciences Journal*, Dubai, 12(8): 1269-1273.

CAPÍTULO II

**DESOVAS DE *Astyanax altiparanae* “OUT-OF-SEASON” (INVERNO) E NA
ESTAÇÃO REPRODUTIVA NATURAL (PRIMAVERA)**

DESOVAS DE *Astyanax altiparanae* “OUT-OF-SEASON” (INVERNO) E NA ESTAÇÃO REPRODUTIVA NATURAL (PRIMAVERA)

RESUMO

O objetivo do trabalho foi comparar parâmetros reprodutivos de *Astyanax altiparanae* em desovas fora da estação reprodutiva “out-of-season” (inverno) aos da estação reprodutiva natural (primavera). O experimento foi dividido em duas fases: (1) F1, realizada entre julho e agosto de 2013 (inverno, 57 dias), e (2) F2, realizada entre outubro e novembro de 2013 (primavera, 57 dias), e em cada fase foram utilizados 32 casais. No F1 horas de luz e temperatura da água foram controladas de forma a apresentar valores próximos aos registrados na primavera (média de horas de luz e temperatura da água: 13,85 e 24,40°C, respectivamente), enquanto que no F2 essas variáveis não foram manipuladas. Durante ambas as fases, a cada 14 dias, 8 casais foram submetidos à indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa, tendo-se acompanhado a liberação, número, fertilização e diâmetro dos ovos, a evolução dos ovários, e sobrevivência larval até o terceiro dia de vida. Posteriormente, foram estimados custos, receita e lucro da produção. Não foi observada diferença entre as fases quanto à proporção de fêmeas que liberaram oócitos (F1: 81,25; F2: 68,75%; $p=0,2526$), entretanto, o número de ovos (g fêmea)⁻¹ do F2 foi superior ao F1 ($999,61 \pm 367,53$ e $710,95 \pm 335,59$, respectivamente; $p=0,0066$), bem como o diâmetro médio dos ovos ($611,61 \pm 31,54$ e $603,20 \pm 24,34$ μm , respectivamente; $p=0,0000$). Em relação à taxa de fertilização F1 apresentou valor superior (F1: $84,85 \pm 18,35$; F2: $71,70 \pm 26,64\%$; $p=0,0472$), enquanto que não houve diferença para os valores da taxa de sobrevivência larval (F1: $34,65 \pm 28,75$, F2: $38,00 \pm 36,65\%$; $p=0,7955$). Nas fêmeas de ambas as fases que responderam à indução hormonal foram abundantes os folículos pós-ovulatórios, oócitos primários e pré-vitelogênicos, enquanto que nas fêmeas que não desovaram foram predominantes oócitos em atresia. O lucro operacional da produção de ovos e larvas durante a primavera foi superior ao de inverno (US\$ 1.498,542 contra US\$ 976,558), assim como a margem bruta (1.552,64 contra 552,16%). De forma geral, na reprodução “out-of-season” foram registradas respostas comparáveis às verificadas no período reprodutivo natural da espécie. Assim, é vantajoso que a estratégia de manipulação ambiental utilizada seja adotada com vistas a permitir a produção de ovos e larvas durante maior período do ano.

Palavras-chave: Análise econômica, lambari-do-rabo-amarelo, manipulação ambiental, reprodução induzida.

SPAWNINGS OF *Astyanax altiparanae* DURING NATURAL BREEDING SEASON (SPRING) AND OUT-OF-SEASON (WINTER)

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the reproductive parameters of *Astyanax altiparanae* between out-of-season (winter) and natural season (spring) spawnings. The experiment was conducted in two stages: (1) F1, conducted during winter (July to August 2013, 57 days), and (2) F2, conducted during spring (October to November 2013, 57 days). During each stage 32 couples of fish were used. In F1 hours of light and water temperature were manipulated in order to provide similar conditions to those observed during spring (average hours of light: 13,85; average temperature: 24,40°C). In F2 those variables were not controlled. During both stages, each 14 days, eight couples were hormonally induced with carp pituitary extract, and then eggs were collected after natural spawning. Amount of eggs, fertilization rates and diameter were measured from each spawn. Additionally, microscopical changes in ovaries, larval survival (3th day) were evaluated. Costs, incoming and profit of the production were estimated. There was no difference between the phases on the percentage of females that released oocytes (F1: 81,25; F2: 68,75%; $p=0,2526$), however, the number of eggs (g female)⁻¹ was greater on F2 than on F1 (999,61 ± 367,53 and 710,95 ± 335,59, respectively; $p=0,0066$), as well as the diameter of the eggs produced (611,61 ± 31,54 and 603,20 ± 24,34 µm, respectively; $p=0,0000$). The value of fertilization rate of F1 was greater than the value of F2 (F1: 84,85 ± 18,35; F2: 71,70 ± 26,64%; $p=0,0472$), and no difference was observed for the survival rate (F1: 34,65 ± 28,75, F2: 38,00 ± 36,65%; $p=0,7955$). Females from both phases that responded to hormonal induction had ovaries with many postovulatory follicles, and primary and previtellogenic oocytes, whereas in females that not spawned most of the oocytes were atretic. Operational profit from eggs and larvae production during spring was greater than during winter (US\$ 1.498,542 vs. US\$ 976,558), as well as the gross margin (1.552,64 vs. 552,16%). It was observed that, in general terms, the results obtained on out-of-season spawning were comparable to those verified during the natural season reproduction. Thus, it is advantageous to adopt the environmental manipulation strategy utilized in order to enable the production of eggs and larvae during most of the year.

Keywords: Economic analysis, environmental manipulation, lambari-do-rabo-amarelo, induced reproduction.

1. INTRODUÇÃO

Astyanax altiparanae Garutti & Britski, 2000, popularmente conhecido como lambari-do-rabo-amarelo, lambari-relógio ou tambiú é uma espécie da família Characidae (LIMA *et al.*, 2003) que apresenta potencial para aquicultura no Brasil (GONÇALVES *et al.*, 2014). Atualmente a produção destina-se à comercialização para o consumo direto e, principalmente, para o mercado de isca-viva na pesca esportiva (FERREIRA *et al.*, 2014). A espécie apresenta desova parcelada e a reprodução ocorre entre os meses de setembro e março (PORTO-FORESTI *et al.*, 2010). Essa restrição do período reprodutivo às estações de primavera e verão é uma característica marcante em diversas espécies nativas de interesse comercial (GONÇALVES *et al.*, 2006; GODINHO *et al.*, 2007; COSTA e MATEUS, 2009; ROMAGOSA, 2010), e limita a disponibilidade de ovos e larvas a determinadas épocas do ano. Dessa forma, uma alternativa que contribuiria para a expansão da produção aquícola é o desenvolvimento de métodos que viabilizem a produção de desovas fora da estação reprodutiva (out-of-season) (KUCHARCZYK *et al.*, 2008). Em peixes neotropicais são raros estudos que objetivem a manipulação do período reprodutivo natural, exceto para *A. altiparanae*, espécie para a qual foram obtidas desovas de inverno mediante a manipulação de horas de luz e temperatura da água (EVANGELISTA *et al.*, não publicado).

O controle das variáveis ambientais tem-se mostrado bem sucedido no adiantamento ou atraso da reprodução de diversas espécies de peixes, entretanto, em alguns casos influenciou negativamente o desempenho reprodutivo (HANSEN *et al.*, 2001; RAMOS *et al.*, 2002; FRANTZEN *et al.*, 2004; BISWAS *et al.*, 2005). Assim, a análise dos parâmetros reprodutivos de desovas “out-of-season” comparados com os resultados verificados na estação reprodutiva natural é essencial para que seja avaliado se as respostas obtidas são satisfatórias e se as estratégias de manipulação ambiental empregadas devem ser ajustadas.

Diante do que foi exposto, objetivou-se comparar parâmetros reprodutivos de *A. altiparanae* na desova fora da estação reprodutiva “out-of-season” (inverno) com os da estação reprodutiva natural (primavera). Dessa forma, foram avaliados o número e diâmetro dos ovos liberados, o valor da taxa de fertilização, as características microscópicas dos ovários, e o valor da taxa

de sobrevivência larval. Paralelamente, foram comparados custos, receita e lucro da produção nas duas estações reprodutivas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Polo APTA Centro Leste – UPD Pirassununga, São Paulo (21°55'37,4"S 47°22'10,0"O) com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Pesca (Protocolo 07/2013). O experimento foi desenvolvido em duas fases: (1) fora da estação reprodutiva de *Astyanax altiparanae* (F1, inverno – de 3 julho e a 28 de agosto de 2013: 57 dias), e (2) durante a estação reprodutiva natural (F2, primavera - de 2 de outubro a 27 de novembro de 2013: 57 dias).

Em cada fase foram utilizados 32 casais de *A. altiparanae* provenientes do plantel de reprodutores, os quais foram selecionados ao acaso, estocados em tanques de concreto (3,00 x 1,00 x 1,00 m) revestidos com geomembrana preta. Os tanques foram providos de sistema de recirculação de água com utilização de filtro mecânico e biológico externo, e a oxigenação foi realizada por meio de compressor de ar.

No tanque onde foram mantidos os peixes de F1 (comprimento padrão \pm desvio padrão de fêmeas e machos: $9,05 \pm 0,48$ cm e $6,90 \pm 1,43$ cm, respectivamente), horas de luz (fotoperíodo e crepúsculo civil) e temperatura da água foram manipuladas conforme descrito por EVANGELISTA *et al.* (não publicado). Dessa forma, os valores apresentados por essas variáveis foram próximos aos registrados na primavera de anos anteriores (2009-2012) (Figura 1 e Tabela 1).

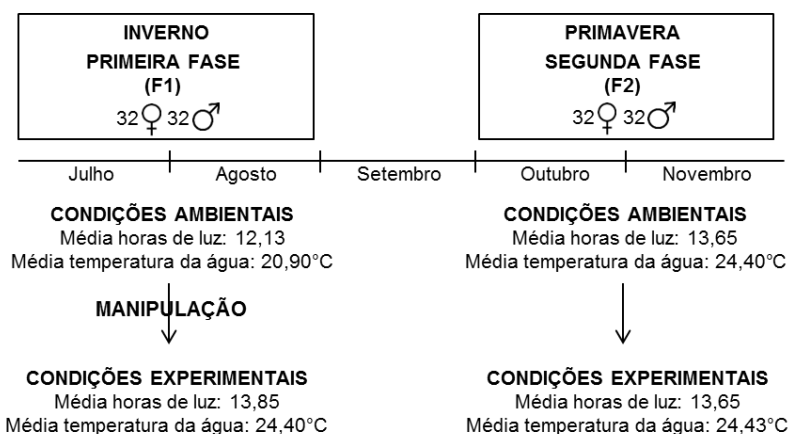


Figura 1: Esquema das fases utilizadas durante a realização do experimento.

Na segunda fase os peixes (F2; comprimento padrão \pm desvio padrão de fêmeas e machos: $9,40 \pm 0,69$ cm e $8,20 \pm 0,61$ cm, respectivamente) foram mantidos em ambiente no qual horas de luz e temperatura da água não foram manipulados, refletindo assim as condições ambientais naturais (Figura 1 e Tabela 1). Diariamente foram acompanhados os valores das temperaturas máxima e mínima (Termômetro Incoterm), e para obtenção do número de horas de luz foi utilizado como referência TIME AND DATE AS[®] (1995-2012).

Tabela 1. Horas de luz e temperatura da água em que foram mantidos os exemplares de *Astyanax altiparanae* do F1 e do F2. Em negrito estão indicadas as semanas em que foram realizadas as coletas de dados.

Semana	Temperatura média \pm desvio-padrão (°C)		Fotoperíodo		Crepúsculo		Horas de luz	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
1	23,73 \pm 0,04	22,1 \pm 0,67	12:26	12:21	00:45	00:45	12:23	13:06
2	24,04 \pm 0,30	23,89 \pm 0,47	12:35	12:29	00:45	00:45	12:26	13:14
3	24,61 \pm 0,23	25,93 \pm 1,15	12:44	12:37	00:45	00:45	12:30	13:23
4	24,98 \pm 0,23	25,09 \pm 0,55	12:52	12:46	00:46	00:45	12:35	13:32
5	25,35 \pm 0,38	23,95 \pm 0,95	13:00	12:54	00:46	00:46	12:41	13:41
6	26,61 \pm 0,60	24,89 \pm 0,30	13:07	13:02	00:47	00:47	12:48	13:49
7	25,92 \pm 0,55	24,69 \pm 0,31	13:13	13:09	00:48	00:48	12:55	13:57
8	26,66 \pm 0,72	24,23 \pm 0,92	13:19	13:15	00:48	00:48	13:03	14:04
9	27,15 \pm 0,43	25,17 \pm 0,08	13:23	13:19	00:49	00:48	13:13	14:08

Valores de horas de luz e temperatura da água do F1 obtidos de EVANGELISTA *et al.* (não publicado).

Ademais, para F1 e F2, foi monitorado diariamente o nível de oxigênio dissolvido (F1: $5,81 \pm 0,67$ mg L⁻¹; F2: $5,05 \pm 0,15$ mg L⁻¹), e semanalmente o pH (F1: $6,95 \pm 0,30$; F2: $6,78 \pm 0,06$) e amônia não ionizada (F1: $1,44 \times 10^{-3} \pm 5,27 \times 10^{-4}$ mg L⁻¹; F2: $1,33 \times 10^{-3} \pm 5,00 \times 10^{-4}$ mg L⁻¹). Ao longo do período experimental os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente (ração comercial extrusada 36% PB, 3000 kcal kg⁻¹ ED).

Durante as duas fases, a cada 14 dias (F1: 16 e 30 de julho, 13 e 28 de agosto de 2013; F2: 15 e 31 de outubro, 12 e 26 de novembro de 2013), oito (8) casais, tomados ao acaso, foram submetidos à indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), totalizando 32 fêmeas e 32 machos

por fase. Dessa forma, as fêmeas receberam duas aplicações: a primeira de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ às 20:00 h, e a segunda de $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ após 6 (seis) horas (SUSSEL, 2013; comunicação pessoal¹). Os machos receberam dose única de 5 mg kg^{-1} no momento da aplicação da segunda dose das fêmeas. Após a indução, os casais permaneceram em aquários individualizados ($0,31 \times 0,50 \times 0,34 \text{ m}$), cuja temperatura da água foi mantida a mesma dos tanques de origem (Tabela 1), e foi aguardada a desova natural (indução hormonal seguida por fecundação natural, segundo REYNALTE-TATAJE *et al.* (2013).

Em F1 e F2, após a liberação dos oócitos e fertilização, os ovos foram sifonados e aferido o peso. Destes ovos foram separadas três (3) subamostras de 0,10 g cada, contadas e estimado o número total de ovos produzido por fêmea, e o número de ovos (g fêmea^{-1}). Estas subamostras foram armazenadas em solução de Gilson (SIMPSON, 1951), dissociando os ovos, e em seguida, realizada a leitura de 50 ovos por fêmea para determinar os diâmetros (média da extensão dos eixos longitudinal e latitudinal). Para as aferições foi utilizado o estereomicroscópio com câmera acoplada (BEL, STMPRO-T-LED; software BEL View).

Após 120 horas-grau da desova e fecundação (fechamento do blastóporo, WEBER *et al.*, 2012) foram separados 100 ovos de cada fêmea para que fossem estimados os valores das taxas de fertilização ($TF = \text{número de ovos viáveis} \times 100 / \text{número total de ovos}$; ROMAGOSA *et al.*, 1990). Os ovos translúcidos foram considerados férteis, enquanto que os opacos foram considerados não fertilizados (WOYNAROVICH e HORVATH, 1983).

Em seguida, foram selecionados 100 ovos férteis de cada fêmea (F1: $n=32$; F2: $n=32$), e transferidos para aquários ($0,31 \times 0,50 \times 0,34 \text{ m}$) com fluxo constante de água ($2,32 \times 10^{-2} \text{ L s}^{-1}$). Os ovos do F1 foram mantidos em água aquecida, na mesma temperatura em que ocorreu a desova, enquanto que os do F2 em água de temperatura ambiente (Tabela 1). Após três (3) dias, foi contado o número de larvas, visando assim determinar o percentual dos valores das taxas de sobrevivência ($TS = \text{número de larvas} \times 100 / \text{número de ovos férteis}$; ROMAGOSA *et al.*, 1990). Após a liberação dos oócitos, foram removidos fragmentos da porção mediana dos ovários, conforme descrito anteriormente, com o intuito de identificar em que fase se encontravam os

¹Informação fornecida por Fábio Rosa Sussel no Polo APTA Centro Leste – UPD Pirassununga, São Paulo, em fevereiro de 2013.

oócitos remanescentes (não liberados), segundo a dinâmica da oogênese descrita por GARCIA *et al.* (2001).

Os resultados estão apresentados como a média \pm desvio padrão. Os dados foram primeiramente testados em relação à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste F. Sendo atendidas tais premissas, foi realizado teste t de Student. No caso de dados não paramétricos foi utilizado o teste de Mann-Whitney; para a proporção de fêmeas que desovaram empregou-se o teste de diferença entre duas proporções. Todas as análises estatísticas foram realizadas com os softwares Past 2.17c e Statistica[®] 8.0, tendo sido aplicado o nível de significância (p) de 0,05.

Posteriormente, foi realizada análise de custos operacionais efetivo e total (COE e COT), receita bruta (RB), lucro operacional (LO) e margem bruta (MB) resultantes da produção de larvas de *Astyanax altiparanae* na primavera (hipotético). Os valores verificados foram comparados com os obtidos por EVANGELISTA *et al.* (não publicado) para a produção de larvas durante o inverno a partir de matrizes mantidas no regime de horas de luz e temperatura do F1. Nos cálculos, foi utilizado o valor médio do dólar no ano de 2013 = R\$2,157 US\$⁻¹, e foram considerados apenas os gastos com a produção, não se levando em conta os investimentos e, conseqüentemente, a depreciação dos bens duráveis. Para tal, foi suposta uma situação em que fossem utilizadas estruturas semelhantes às do presente experimento, que já estivessem disponíveis na propriedade, estocando 125 casais. Admitiu-se que o plantel seria transferido para essas estruturas hipotéticas no início do mês de outubro, assim como realizado no experimento. Os peixes seriam induzidos em dois lotes com intervalo de 15 dias, sendo o primeiro 15 dias após a estocagem, totalizando assim um mês. Visando estimar os custos de produção mensal, foi adaptada a metodologia proposta pelo Instituto de Economia Agrícola de São Paulo (MATSUNAGA *et al.*, 1976; MARTIN *et al.*, 1994). No cálculo do custo operacional efetivo (COE) foram consideradas as despesas com funcionário, energia elétrica, ração e materiais para indução hormonal (hipófise, seringa, agulhas e soro fisiológico) (Tabela 2). Nesse cálculo, não foram consideradas as despesas referentes à embalagem, comercialização, marketing e impostos incidentes na venda. O custo operacional total (COT) foi composto pela soma do COE mais encargos sociais advindos da contratação

de mão-de-obra (contribuição ao INSS, férias e outras despesas), que foram considerados 43% do valor do salário (AYROZA *et al.*, 2011) (Tabela 2). Para os dados de porcentagem de respostas à indução hormonal, número de ovos (g fêmea)⁻¹, taxa de fertilização e sobrevivência das larvas, foram considerados os valores obtidos neste trabalho. Ademais, foi calculada a receita bruta (RB) como o produto do número de larvas obtido e o preço de venda, tendo sido considerado o preço de comercialização de larvas de três dias (1000 unidades: US\$ 4,636, assim, $RB = n \text{ larvas} \times 4,636 / 1000$). O lucro operacional (LO) foi calculado como a diferença entre RB e COT ($LO = RB - COT$), e a margem bruta (MB), como a margem de lucro obtida em relação ao COT, sendo $MB = (LO / COT) \times 100$.

Tabela 2. Itens e valores do custo operacional efetivo (COE) e total (COT) da manutenção de matrizes e produção de larvas de *Astyanax altiparanae* no inverno e na primavera.

Itens COE	Consumo mensal	Custo unitário (US\$)	Custo mensal (US\$)
Inverno			
Funcionário*	-	-	48,981
Energia elétrica	465,20 kWh	0,213	99,088
Ração	6,69 x 10 ⁻¹ Kg	1,052	0,704
Indução hormonal (hipófise, agulha, seringa e soro fisiológico)			7,025
COE (US\$)			155,798
COT (US\$)			176,860
Primavera			
Funcionário*	-	-	48,981
Energia elétrica	88,00 kWh	0,213	18,744
Ração	6,69 x 10 ⁻¹ Kg	1,052	0,704
Indução hormonal (hipófise, agulha, seringa e soro fisiológico)			7,025
COE (US\$)			75,454
COT (US\$)			96,516

*Despesa com um funcionário de 6 horas de dedicação semanal, considerando-se o salário mínimo do estado de São Paulo (US\$ 375,522).

Valores referentes à produção de larvas durante o inverno obtidos de EVANGELISTA *et al.* (não publicado).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser verificado na Tabela 3, fêmeas de ambas as fases do experimento (F1 e F2) responderam à indução hormonal, sendo que não houve diferença entre as fases quanto à proporção de fêmeas que desovaram (F1: 81,25, F2: 68,75%; Teste de comparação entre duas proporções, $p=0,2526$). SATO *et al.* (2006) observaram valor semelhante para esse parâmetro (72%) na reprodução induzida de *Astyanax bimaculatus* com extrato bruto de hipófise de carpa durante a estação reprodutiva natural, enquanto que FELIZARDO *et al.* (2012) obtiveram 100% de respostas.

Tabela 3: Parâmetros reprodutivos de *Astyanax altiparanae* verificados em desovas “out-of-season” (F1) e na estação reprodutiva natural (F2).

Parâmetros reprodutivos	F1	F2
Respostas à indução hormonal (%)	81,25	68,75
Número de ovos (g fêmea) ⁻¹	710,95 ± 335,59*	999,61 ± 367,53
Produção total de ovos	220.250	248.682
Taxa de fertilização (%)	84,85 ± 18,35*	71,70 ± 26,64
Diâmetro dos ovos (µm)	603,20 ± 24,34*	611,61 ± 31,54
Taxa de sobrevivência larval (%)	34,65 ± 28,75	38,00 ± 36,65

*Indica diferença significativa entre as fases F1 e F2 ($p<0,05$)

Valores dos parâmetros reprodutivos de F1 obtidos de EVANGELISTA *et al.* (não publicado).

Segundo PORTO-FORESTI *et al.* (2010), em condições naturais de horas de luz e temperatura da água, a reprodução de *Astyanax altiparanae* ocorre entre setembro e março, meses que correspondem às estações de primavera e verão nas regiões de ocorrência da espécie. Diante disso, o desenvolvimento de técnicas que possibilitem a obtenção de desovas “out-of-season” é uma alternativa que possibilita a produção de peixes em tamanho comercial durante maior parte do ano, atendendo assim a demanda de mercado (RAMOS *et al.*, 2002). Embora EVANGELISTA *et al.* (não publicado) tenham observado que a manipulação de horas de luz e temperatura da água durante o inverno levou ao aumento da porcentagem de desovas, bem como, da fecundidade relativa de *A. altiparanae*, foi verificado no presente estudo que o número de ovos produzidos (g fêmea)⁻¹ do grupo induzido durante a estação reprodutiva natural foi superior (F2: 999,61 ± 367,53 e F1: 710,95 ± 335,59; Tabela 3; Teste de Mann-Whitney, $p=0,0066$). Os valores verificados foram

semelhantes aos relatados por SATO *et al.* (2006), que observaram 678 ovos (g fêmea)⁻¹, e por FELIZARDO *et al.* (2012), que obtiveram 554,50 ± 250,00 ovos (g fêmea)⁻¹.

Diante dos resultados é possível afirmar que o efeito da manipulação ambiental foi satisfatório quanto ao número de desovas obtidas, entretanto, não foi suficiente para estimular a produção de ovos (g fêmea)⁻¹ observada durante o período reprodutivo natural. Tais dados corroboram a afirmação de TATE e HELFRICH (1998) de que o adiantamento da reprodução pode influenciar negativamente os parâmetros reprodutivos. Da mesma forma, KUCHARCZYK *et al.* (2008) obtiveram respostas semelhantes quando compararam parâmetros reprodutivos de *Cyprinus carpio* L durante a estação reprodutiva natural e em desovas “out-of-season”. A resposta inferior observada em *A. altiparanae* também pode estar relacionada ao fato dos reprodutores não terem sido submetidos a uma prévia adaptação ao regime experimental de horas de luz e temperatura da água. Segundo DUNCAN *et al.* (2013) seria ideal que o novo ciclo fototermal fosse implantado no mínimo dois anos antes do período em que seria esperada a desova, visando assim sincronizar o processo maturacional às novas condições ambientais.

Para a taxa de fertilização houve diferença entre as fases, sendo que F1 apresentou valor superior a F2 (84,85 ± 18,35 e 71,70 ± 26,64%, respectivamente; Tabela 3; Teste de Mann-Whitney, $p=0,0472$). Por outro lado, TATE e HELFRICH (1998) não observaram diferenças nos valores dessa taxa para ovos de *Morone chrysops* X *M. saxatilis* produzidos em diferentes estações. O mesmo foi observado por WATANABE e WOOLRIDGE (2006) para *Paralichthys lethostigma*.

No que diz respeito ao diâmetro dos ovos, F1 apresentou valores inferiores a F2 (603,20 ± 24,34 e 611,61 ± 31,54 µm, respectivamente; Tabela 3; Teste de Mann-Whitney, $p=0,0000$). A produção de ovos menores em desovas “out-of-season” observada no presente estudo é um fato recorrente na literatura (BLYTHE *et al.*, 1994; MOREHEAD *et al.*, 2000), e tem sido relacionada ao encurtamento do período de crescimento oocitário provocado pelo adiantamento da liberação (HOWELL *et al.*, 2003).

Para os valores da taxa de sobrevivência larval não foi verificada diferença entre os grupos (F1: 34,65 ± 28,75, F2: 38,00 ± 36,65%; Tabela 3;

Teste de Mann-Whitney, $p=0,7955$), indicando que esse parâmetro não foi influenciado pela produção de ovos “out-of-season”, e que as temperaturas utilizadas na incubação de ovos e larvas (23,9 - 25,9 °C) foram adequadas para o desenvolvimento. Da mesma forma, para *Cyprinus carpio* L (KUCHARCZYK *et al.*, 2008), *Micropterus salmoides floridanus* (MATTHEWS e STOUT, 2013), e *Paralichthys lethostigma* (WATANABE e WOOLRIDGE, 2006) os valores da taxa de sobrevivência de larvas produzidas “out-of-season” foram semelhantes aos de larvas produzidas durante a estação reprodutiva natural. Além disso, em *A. altiparanae* não foi encontrada relação entre tamanho dos ovos e sobrevivência larval, corroborando os relatos de EVANGELISTA *et al.* (não publicado).

Não foram verificadas diferenças morfológicas entre os oócitos de F1 e F2, sendo que os estádios de desenvolvimento observados apresentaram características semelhantes às descritas por EVANGELISTA *et al.* (não publicado). Nas fêmeas de ambas as fases que responderam à indução hormonal foram abundantes oócitos primários e pré-vitelogênicos (Figura 2A1), enquanto que oócitos em vitelogênese (Figura 2A2) foram raros. Ademais, foram observados numerosos folículos pós-ovulatórios (Figura 2A3), e em algumas fêmeas do F2 foi verificada a presença de oócitos maduros em estádios inicial e intermediário de atresia. A semelhança verificada entre os ovários de F1 e F2 sugere que os peixes de F1 foram mantidos em condições ambientais que possibilitaram que o desenvolvimento oocitário não fosse interrompido durante o inverno. Da mesma forma, MARTIN-ROBICHAUD e BERLINSKY (2004) verificaram que ovários de *Melanogrammus aeglefinus* L. que tiveram a desova adiantada por meio da manipulação de horas de luz foram semelhantes aos observados durante a estação reprodutiva natural quanto às características histológicas. Tais características que refletem o desenvolvimento oocitário, assim como os demais processos relacionados à reprodução, são fortemente influenciadas por alterações sazonais das variáveis ambientais, principalmente horas de luz e temperatura da água (MAÑANÓS *et al.*, 2008). Segundo CARRILLO *et al.* (2009) essas alterações são responsáveis por sincronizar os relógios endógenos às condições externas, atuando na determinação do período reprodutivo.

Nas fêmeas de ambos os grupos que não desovaram foram abundantes oócitos atrésicos. Em F1 foram mais representativos oócitos vitelogênicos e maduros nos estádios intermediário (Figura 2B2) e final de atresia (Figura 2B3), enquanto que no F2 praticamente todos os oócitos observados eram maduros em atresia inicial (Figura 2B1). A atresia consiste em um processo por meio do qual folículos ovarianos são degenerados e reabsorvidos antes que ocorra a ovulação (SANTOS *et al.*, 2005) por meio de mecanismos de autofagia e apoptose (MORAIS *et al.*, 2012). De acordo com CERDÀ (2009) a ocorrência de oócitos atrésicos pode ser relacionada a condições ambientais adversas e a alterações nos níveis hormonais.

Segundo MIAO e TANG (2002) para o desenvolvimento de técnicas de manejo mais eficientes que contribuam para o sucesso da aquicultura é importante que, além dos aspectos biológicos da atividade, sejam considerados também os aspectos econômicos. No presente estudo, a análise econômica da produção de larvas de *A. altiparanae* durante a primavera segundo as condições aqui propostas foi constatado lucro operacional (LO) de US\$ 1.498,542, e margem bruta (MB) de 1.552,64% (Tabela 4). Comparando-se tais indicadores econômicos com os verificados por EVANGELISTA *et al.* (não publicado) na obtenção de larvas “out-of-season”, observou-se que a produção de primavera apresentou LO 53,45% superior, enquanto que para MB a diferença foi de 181,19%. Embora os indicadores de primavera tenham sido superiores, é importante destacar que a obtenção de larvas de inverno por meio da manipulação ambiental é uma alternativa que pode viabilizar a produção contínua de alevinos ao longo de todo o ano, permitindo assim que a atividade de criação se estenda por um período maior. Atualmente, embora o ciclo de produção da espécie seja de cerca de 120 dias, na maioria das propriedades são efetivamente produzidas apenas 2 (duas) safras ao ano, uma vez que na época mais fria a produção cessa (SABBAG *et al.*, 2011). Dessa forma, é oportuno que sejam realizados estudos que objetivem buscar formas de reduzir os custos de produção das larvas de inverno, aumentando assim a lucratividade. MIAO *et al.* (2009) observaram em sistemas de cultivo de *Rachycentron canadum* que uma das formas de promover esse incremento na rentabilidade é a ampliação da escala de produção.

Tabela 4. Total estimado de ovos e larvas de *Astyanax altiparanae* produzidos em desovas “out-of-season” (inverno) e durante a estação reprodutiva natural (primavera), e indicadores econômicos.

Dados	Inverno	Primavera
Total estimado de ovos (n)	846.230	1.262.787
Total estimado de larvas (n)	248.796	344.059
Receita bruta (US\$)	1.153,418	1.595,058
Lucro operacional (US\$)	976,558	1.498,542
Margem bruta (%)	552,16	1.552,64

Valores referentes à produção de larvas durante o inverno obtidos de EVANGELISTA *et al.* (não publicado).

Diante dos resultados é possível afirmar que as desovas de inverno (out-of-season) de *A. altiparanae* apresentaram características semelhantes às obtidas durante a primavera (estação reprodutiva natural) em relação à porcentagem de fêmeas que responderam à indução hormonal e à sobrevivência das larvas, e foram superiores quanto ao valor da taxa de fertilização. Por outro lado, nas desovas de primavera os ovos produzidos foram maiores, e a fecundidade relativa e os indicadores econômicos foram superiores. Com isso conclui-se que, de forma geral, na reprodução “out-of-season” foram registradas respostas comparáveis às verificadas no período reprodutivo natural da espécie. Assim, é vantajoso que a estratégia de manipulação de horas de luz e temperatura da água utilizada seja adotada com vistas a permitir a produção de ovos e larvas durante maior período do ano. Entretanto, é importante que sejam realizados estudos que busquem realizar ajustes na estratégia de manipulação ambiental utilizada, permitindo assim obter desempenho reprodutivo superior e diminuir os custos de produção.

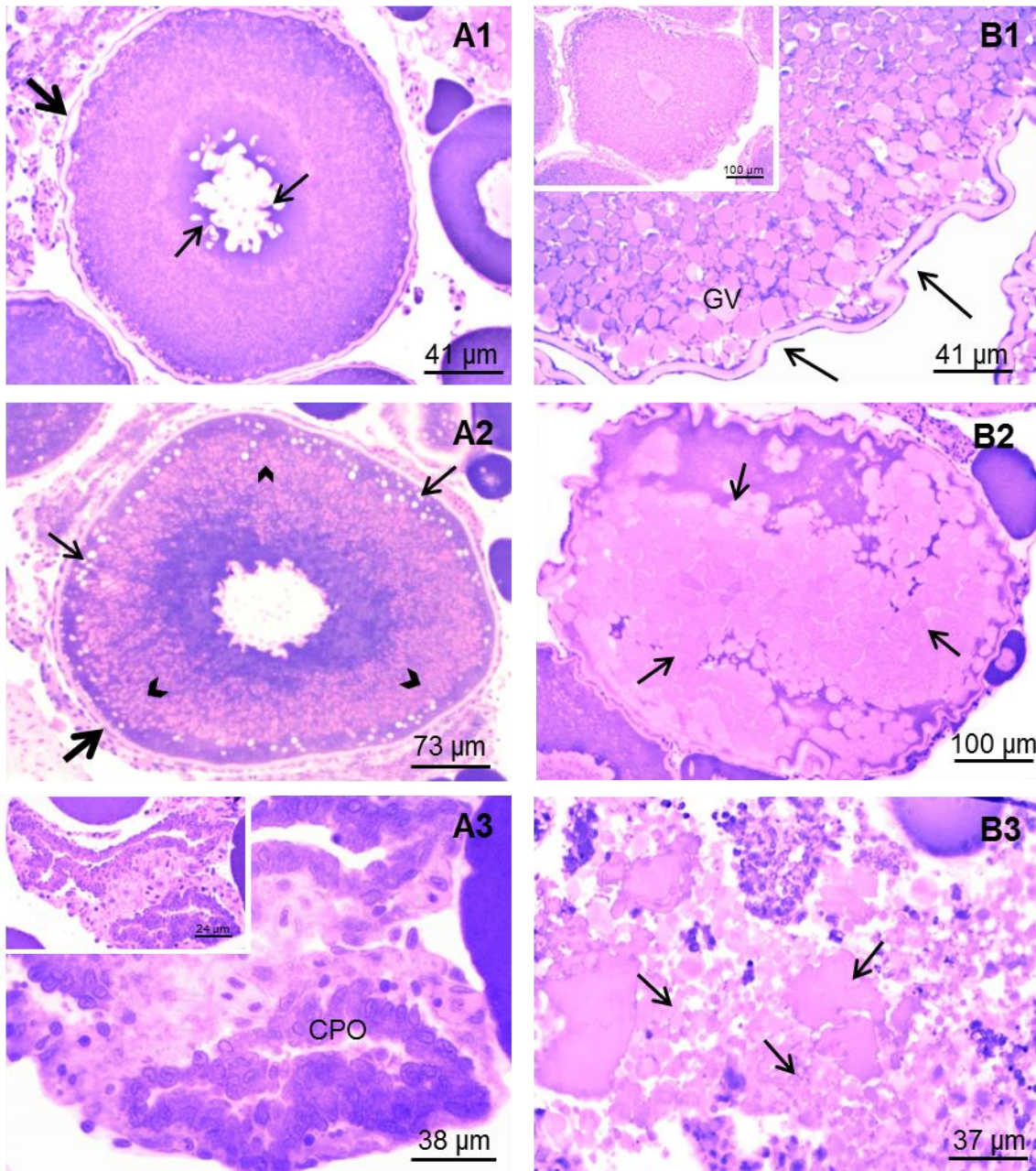


Figura 2. Oócitos de *Astyanax altiparanae*.

A. Fêmeas que responderam à indução hormonal.

A1. Oócito pré-vitelogênico com zona radiata evidente (seta grossa) e núcleo com contorno irregular (setas finas).

A2. Oócito vitelogênico com grânulos de vitelo (cabeça de seta), alvéolos corticais (setas finas) e zona radiata espessa (seta grossa).

A3. Complexo folicular pós-ovulatório (CPO).

B. Fêmeas que não responderam à indução hormonal.

B1. Oócito em atresia inicial com grânulos de vitelo (GV) e zona radiata contorcida (setas).

B2. Oócito em atresia intermediária com grânulos de vitelo fundidos formando uma massa (setas).

B3. Oócito em atresia final com restos de vitelo (setas).

4. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 2013/13715-8) pela bolsa de Mestrado concedida, à Dra. Maria Letizia Petesse (Pós-doutoranda do Instituto de Pesca) pelo auxílio na análise estatística dos dados, e ao Dr. João Donato Scorvo Filho (Pesquisador Científico do Polo APTA Leste Paulista) pelo auxílio na análise econômica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYROZA, L.M.S.; ROMAGOSA, E.; AYROZA, D.M.M.R.; SCORVO FILHO, J.D.; SALLES, F.A. 2011 Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40(2): 231-239.
- BISWAS, A.K.; MORITA, T.; YOSHIZAKI, G.; MAITA, M.; TAKEUCHI, T. 2005 Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture*, Amsterdam, 243(1-4): 229-239.
- BLYTHE, W.G.; HELFRICH, L.A.; LIBEY, G.; BEAL, W.E. 1994 Induced maturation of striped bass *Morone saxatilis* exposed to 6, 9 and 12 month photothermal regimes. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, 25(2): 183–192.
- CARRILLO, M.; ZANUY, S.; BAYARRI, M.J. 2009 El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precocidad. In: ESTÉVEZ, M.A.C. *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura. p.175-246.
- CERDÀ, J. 2009 Mecanismos moleculares durante la maduración y ovulación del oocito de teleosteos: avances recientes y su aplicación en acuicultura. . In: ESTÉVEZ, M.A.C. *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura. p. 401-474.
- COSTA, R.M.R.; MATEUS, L.A.F. 2007 Reproductive biology of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Teleostei: Characidae) in the Cuiabá River Basin, Mato Grosso, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, Porto Alegre, 7(3): 447-458.
- DUNCAN, N.J.; SONESSON, A.K.; CHAVANNE, H. 2013 Principles of finfish broodstock management in aquaculture: control of reproduction and genetic improvement. In: ALLAN, G.; BURNELL, G. *Advances in aquaculture hatchery technology*. Cambridge: Woodhead Publishing. p.23-75.
- EVANGELISTA, M.M.; SUSSEL, F.R.; ROMAGOSA, E. Não publicado Produção de ovos de *Astyanax altiparanae* durante o inverno por manipulação ambiental.
- FELIZARDO, V.O.; MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; LÓPEZ, P.A.; FREITAS, R.T.F.; FERREIRA, M.R. 2012 Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, New York, 77: 1570–1574.

FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; FREITAS, M.B.D. 2014 Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the Aquaculture Society*, Baton Rouge, 45(1): 28-34.

FRANTZEN, M.; ARNESEN, A.M.; DAMSGÅRD, B.; TVEITEN, H.; JOHNSEN, H.K. 2004 Effects of photoperiod on sex steroids and gonad maturation in Arctic charr. *Aquaculture*, Amsterdam, 240(1-4): 561–574.

GARCIA, J.D.A.; CHINI, H.A.S.; MAISTRO, E.L.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. 2001 Dynamics and cytochemistry of oogenesis in *Astyanax fasciatus* (Cuvier) (Teleostei, Characiformes, Characidae) from Rio Sapucaí, Minas Gerais State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 18(4): 1057-1064.

GODINHO, A.L.; KYNARD, B.; GODINHO, H.P. 2007 Migration and spawning of female surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*, Pimelodidae) in the São Francisco river, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, Dordrecht, 80(4): 421-433.

GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. 2014 The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. *Aquaculture Research*, Oxford, 45(2): 195–203.

GONÇALVES, T.L.; BAZZOLI, N.; BRITO, M.F.G. 2006 Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Brycon orthotaenia* (Günther, 1864) (Pisces: Characidae) in the São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, 66(2A): 513-522.

HANSEN, T.; KARLSEN, Ø.; TARANGER, G.L.; HEMRE, G.; HOLM, J.C.; KJESBU, O.S. 2001 Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod *Gadus morhuareared* under different photoperiods. *Aquaculture*, Amsterdam, 203(1-2): 51–67.

HOWELL, R.A.; BERLINSKY, D.L.; BRADLEY, T.M. 2003 The effects of photoperiod manipulation on the reproduction of black sea bass, *Centropristis striata*. *Aquaculture*, Amsterdam, 218(1-4): 651 – 669.

KUCHARCZYK, D.; TARGOŃSKA, K.; HLIWA, P.; GOMUŁKA, P.; KWIATKOWSKI, M.; KREJSZEFF, S.; PERKOWSKI, J. 2008 Reproductive parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L) spawners during natural season and out-of-season spawning. *Reproductive Biology*, Olsztyn, 8(3): 285-289.

LIMA, F.C.T.; MALABARBA, L.R.; BUCKUP, P.A.; SILVA, J.F.P.; VARI, R.; HAROLD, A.; BENINE, R.; OYAKAWA, O.Y.; PAVANELLI, C.S.; MENEZES, N.A.; LUCENA, C.A.S.; MALABARBA, M.C.S.L.; LUCENA, Z.M.S.; REIS, R.E.; LANGEANI, F.; CASSATI, L.; BERTACO, V.A.; MOREIRA, C.; LUCINDA, P.H.F. 2003 Genera Incertae Sedis in Characidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C.J. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS. p.106-169.

MAÑANÓS, E.; DUNCAN, N.; MYLONAS, C. 2008 Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRAEZ, P. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. Boca Raton: Taylor & Francis Group. p.3-80.

MARTIN, N.B.; SERRA, R.; ANTUNES, J.F.G.; OLIVEIRA, M.D.M.; OKAWA, H. 1994 Custos: Sistema de custo de produção agrícola. *Informações Econômicas*, São Paulo, 24(9): 97-122.

MARTIN-ROBICHAUD, D.J.; BERLINSKY, D.L. 2004 The effects of photothermal manipulation on reproductive development in female haddock *Melanogrammus aeglefinus* L. *Aquaculture Research*, Oxford, 35(5): 465-472.

MATTHEWS, M.D.; STOUT, R.B. 2013 Out-of-season spawning method for florida largemouth bass to produce advanced-sized fingerlings by early spring. *North American Journal of Aquaculture*, Philadelphia, 75(4): 524–531.

MATSUNAGA, M.; BEMELMANS, P.F.; TOLEDO, P.E.N.; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. 1976 Metodologia de custo de produção utilizado pelo IEA. *Agricultura em São Paulo*, São Paulo, 23: 123-139.

MIAO, S.; JEN, C.C.; HUANG, C.T.; HU, S.H. 2009 Ecological and economic analysis for cobia *Rachycentron canadum* commercial cage culture in Taiwan. *Aquaculture International*, Amsterdam, 17: 125-141.

MIAO, S.; TANG, H.C. 2002 Bioeconomic analysis of improving management productivity regarding grouper *Epinephelus malabaricus* farming in Taiwan. *Aquaculture*, Amsterdam, 211: 151-169.

MORAIS, R.D.V.S.; THOMÉ, R.G.; LEMOS, F.S.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. 2012 Autophagy and apoptosis interplay during follicular atresia in fish ovary: a morphological and immunocytochemical study. *Cell and Tissue Research*, Heidelberg, 347(2): 467–478.

MOREHEAD, D.T.; RITAR, A.J.; PANKHURST, N.W. 2000 Effect of consecutive 9- or 12-month photothermal cycles and handling on sex steroid levels, oocyte development, and reproductive performance in female striped trumpeter *Latris lineata* (Latrididae). *Aquaculture*, Amsterdam, 189(3-4): 293-305.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. 2010 Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Editora da UFSM. p.105-120.

RAMOS, J.; RODRÍGUEZ, L.; ZANUY, S.; CARRILLO, M. 2002 Influencia del fotoperiodo sobre la aparición de la primera madurez sexual, comportamiento reproductivo y calidad de puestas en hembras de lubina *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, Madrid, 18(1-4): 175-182.

REYNALTE-TATAJE, D.A.; LOPES, C.A.; ÁVILA-SIMAS, S.; GARCIA, J.R.E.; ZANIBONI-FILHO, E. 2013 Artificial reproduction of neotropical fish: extrusion or natural spawning? *Natural Science*, 5(7): 1-6.

ROMAGOSA, E. 2010 Reproductive status in females of the Brazilian catfish, *Pseudoplatystoma fasciatum* reared in cages. *Journal of Applied Ichthyology*, Berlin, 26(5): 806–811.

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

SABBAG, O.J.; TAKAHASHI, L.S.; SILVEIRA, A.N.; ARANHA, A.S. 2011 Custos e viabilidade econômica da produção de lambari-do-rabo-amarelo em Monte Castelo/SP: um estudo de caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 37(3): 307-315.

SANTOS, H.B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N.; SATO, Y.; MORO, L. 2005 Ovarian regression and apoptosis in the South American teleost *Leporinus taeniatus* Lütken (Characiformes, Anostomidae) from the São Francisco Basin. *Journal of Fish Biology*, London, 67(5): 1446–1459.

SATO, Y.; SAMPAIO, E.V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J.R. 2006 Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae

(Osteichthyes, Characiformes) da Bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 23(1): 267-273.

SIMPSON, A.C. 1951 The fecundity of the plaice. *Fish Investigation*, London, 5: 1-27.

TATE, A.E.; HELFRICH, L.A. 1998 Off-season spawning of sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) exposed to 6- or 9-month phase-shifted photothermal cycles. *Aquaculture*, Amsterdam, 167(1): 67-83.

TIME AND DATE AS[®]. *Sun & Moon: Sunrise & Sunset times*. Disponível em: <<http://www.timeanddate.com>>. Acesso em 28 abr. 2014.

WATANABE, W.; WOOLRIDGE, C. 2006 Progress toward year-round spawning of southern flounder broodstock by manipulation of photoperiod and temperature. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, 37(3): 256-272.

WEBER, A.A.; ARANTES, F.P.; SATO, Y.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. 2012 Oocyte adhesiveness and embryonic development of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Characidae). *Zygote*, Cambridge, 21(2): 198-202.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. 1983 The artificial propagation of warm-water finfishes - A manual for extension. Traduzido por Chama, V.L.M. Brasília: Escopo. 220p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com o controle das variáveis ambientais mostraram a aplicabilidade da manipulação de horas de luz e temperatura da água na obtenção de desovas de inverno de *Astyanax altiparanae*. As respostas dos parâmetros reprodutivos “out-of-season” foram comparáveis às verificadas no período reprodutivo natural da espécie. Juntamente, os indicadores econômicos indicam que as estratégias utilizadas podem ser associadas às atuais práticas de manejo reprodutivo estendendo a produção de ovos e larvas por maior período do ano.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Levando-se em consideração que estudos que relacionam o controle de condições ambientais à manipulação do período reprodutivo de espécies nativas são escassos, o ineditismo dos resultados leva a crer que é oportuna a repetição do experimento utilizando estruturas de criação mais adequadas à realidade dos produtores (equipamentos para controle de horas de luz e temperatura da água, viveiros de maior dimensão, maior número de peixes, etc), além do desenvolvimento de protocolos de manejo que garantam a sobrevivência das pós-larvas. Tais medidas devem contribuir para que a produção contínua de *Astyanax altiparanae* ao longo de todo o ano torne-se uma alternativa econômica ainda mais vantajosa.