

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG

Escola de veterinária

Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Gustavo Soares da Costa Júlio

**Crescimento, primeira maturação, hematologia, bioquímica sanguínea e
reprodução do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema de recirculação
de água**

Belo Horizonte
2024

Gustavo Soares da Costa Júlio

**Crescimento, primeira maturação, hematologia, bioquímica sanguínea e
reprodução do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema de recirculação
de água**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal/Aquacultura.

Orientador: Prof. Dr. Ronald Kennedy Luz

Coorientador: Prof. Dr. Glauber David
Almeda Palheta

Belo Horizonte
2024

J94c Júlio, Gustavo Soares da Costa 1992-
Crescimento, primeira maturação, hematologia, bioquímica sanguínea e
reprodução do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema de recirculação
de água/ Gustavo Soares da Costa Júlio. – 2024.
88f: il.

Orientador: Ronald Kennedy Luz
Tese (Doutorado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da
UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.
Área de concentração: Produção Animal/ Aquacultura.
Inclui Bibliografia.

1. Tambaqui - Reprodução - Teses - 2. Peixe - Teses -3. Aquacultura -
Teses - I. Luz, Ronald Kennedy - II. Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária - III. Título

CDD – 639.3

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

"CRESCIMENTO, PRIMEIRA MATURAÇÃO, HEMATOLOGIA, BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E REPRODUÇÃO DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA"

Gustavo Soares da Costa Júlio

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **26 de fevereiro de 2024**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes professores:

Eduardo Antônio Sanches (UNESP)
Documento assinado digitalmente
 **EDUARDO ANTONIO SANCHES**
Data: 26/02/2024 20:09:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Daniilo Pedro Streit Jr.
Documento assinado digitalmente
 **DANILO PEDRO STREIT JR**
Data: 27/02/2024 06:45:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Danilo Pedro Streit Jr. (UFRGS)

Documento assinado digitalmente
 **EDENILCE DE FATIMA FERREIRA MARTINS**
Data: 26/02/2024 19:21:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Edenilce de Fátima Ferreira Martins (UFS)

Documento assinado digitalmente
 **LUCAS PEDRO GONCALVES JUNIOR**
Data: 26/02/2024 19:48:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Lucas Pedro Gonçalves Júnior (Universidade Nilton Lins)

Documento assinado digitalmente
 **RONALD KENNEDY LUZ**
Data: 27/02/2024 11:38:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ronald Kennedy Luz – Orientador (UFMG)

Belo Horizonte, 26 de fevereiro de 2024.

Dedico esta tese a Deus, minha família, meus amigos, meu orientador e meus companheiros de laboratório que me ajudaram a concluir mais um objetivo, sem vocês, seria impossível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por estar sempre ao meu lado, me abençoando, iluminando e guiando os meus caminhos em todos os momentos;

Aos meus pais Clever e Anna Lúcia, a minha avó Nadyr e minha irmã Luana, pela paciência, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos. Muito obrigado, eu amo vocês;

Ao meu orientador, professor Dr. Ronald Kennedy Luz, por todos os ensinamentos e conhecimentos passados, pela parceria, conselhos e paciência que teve comigo durante todo esse processo. Muito obrigado por tudo, você é um exemplo para mim;

Aos meus amigos Cláudio, Pedro Cortezzi, Luiz Felipe, Felipe Batista e André Sena pelos conselhos, conversas e apoio;

Agradecimento especial ao meu amigo e parceiro de laboratório, Fábio Aremil pelo apoio, conselhos e auxílio com a análise estatística neste estudo, e ao meu amigo Helder Guilherme, pelo auxílio na criação da figura do sistema de recirculação utilizado;

Ao professor Dr. Nilo Bazzoli, pela ajuda e conhecimentos passados na confecção das lâminas para histologia;

Ao meu coorientador professor Dr. Glauber David Almeida Palheta, pela disponibilidade, conselhos e ajuda na execução deste trabalho;

Aos meus colegas do laboratório de larvicultura, em especial ao Sidney e Imaculada e a professora Dra. Gisele Cristina Favero, pela ajuda nas análises hematológicas e bioquímicas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo de doutorado e de projetos aprovados, e aos demais órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo auxílio em vários projetos que fiz parte durante esses quatro últimos anos;

À Universidade Federal de Minas Gerais, por me dar a oportunidade de utilizar toda sua estrutura, para que juntamente com os meus colegas e professores, fosse possível concluir mais um trabalho, adquirindo conhecimento e experiência para a vida pessoal e profissional;

À banca de defesa, professores Doutores, Edenilce de Fátima Ferreira Martins, Eduardo Antônio Sanches, Danilo Pedro Streit Jr. e Lucas Pedro Gonçalves Junior, pela disponibilidade em aceitar fazer parte deste processo;

Agradeço a todas as pessoas que de uma forma ou de outra fizeram parte desse processo, que não foi fácil, mas com a ajuda e o apoio de cada um de vocês, foi possível concluir mais uma etapa. Muito obrigado!

RESUMO

Crescimento, primeira maturação, hematologia, bioquímica sanguínea e reprodução do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em sistema de recirculação de água

O objetivo do presente estudo foi avaliar o crescimento, primeira maturação hematologia, bioquímica sanguínea e reprodução do *Colossoma macropomum* em condições controladas. Dessa forma foram executados dois experimentos. No primeiro experimento foram avaliados o crescimento, desenvolvimento gonadal, primeira maturação, qualidade da primeira espermição e reprodução. Inicialmente, larvas de *C. macropomum*, adquiridos de uma fazenda localizada no estado do Pará, foram aclimatados e colocados em um sistema de recirculação de água no Laboratório de Aquacultura (LAQUA), até atingirem o tamanho e peso ideal para início do experimento. 150 animais com 155 dias após eclosão (DAE) foram transferidos para um tanque com capacidade de 3,0 m³ e sistema estático (27,6±0,5 °C, oxigênio dissolvido acima de 4,5 mg/L, amônia total abaixo de 0,5 mg/L e pH entre 6,5 e 7,8), alimentados duas vezes ao dia com dieta comercial contendo 32% proteína bruta (P.B), 7% de extrato etéreo e 5% de fibra, pellets de 4-6 mm. Devido ao rápido crescimento, com 171 DAE, os animais foram divididos em dois tanques de 3,0 m³ cada e permaneceram neste sistema por 60 dias. Aos 231 DAE os animais foram transferidos para um único tanque de 23 m³, equipado com sistema de recirculação de água, com controle de temperatura (27,5±0,5 °C), oxigênio (> 4,00 mg/L) e fotoperíodo (12/12), alimentados duas vezes ao dia com dieta comercial (32% PB), até o final do experimento (1080 DAE). Durante todo o estudo, machos e fêmeas apresentaram ganho em peso e comprimento, não sendo observada diferença significativa (P>0,05) entre os sexos para esse parâmetro. Com 590 DAE, foi observado os primeiros machos em processo de maturação inicial e as primeiras fêmeas só atingiram esse mesmo estágio com 710 DAE. Houve diferença (P<0,05) entre machos e fêmeas nos índices hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS). Não foi observada diferença (P>0,05) na qualidade espermática analisada entre machos de diferentes idades (890 e 990 DAE). Ao final do experimento, 50% das fêmeas que foram induzidas responderam positivamente à indução e desovaram. Já no segundo experimento realizado, foi comparar o perfil hematológico e bioquímico sanguíneo de machos e fêmeas durante o processo de primeira maturação. Foi observada maior variação nos parâmetros hematológicos entre fêmeas de idades distintas. No perfil hematológico, houve diferença (P<0,05) entre machos e fêmeas, apenas na contagem de eritrócitos. Já, no perfil bioquímico sanguíneo, machos e fêmeas apresentaram diferença

($P < 0,05$) apenas nas concentrações de triglicerídeos, durante o período do estudo. Contudo, dentro do mesmo sexo, porém na comparação entre as idades, houve diferença ($P < 0,05$) nos valores de hematócrito, proteína plasmática, hemoglobina, leucócitos, eritrócitos, glicose, triglicerídeos e colesterol nas fêmeas, e nos machos foi observada diferença nos valores de leucócitos, eritrócitos, glicose, triglicerídeos e colesterol. Com relação a concentração de FSH e LH em machos e fêmeas em estágio avançado de maturação, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre os sexos. Dessa forma, com os resultados obtidos neste estudo, concluímos que é possível realizar o ciclo completo de cultivo do *C. macropmum*, desde a larvicultura, até a reprodução em sistema de recirculação de água. Observamos também que as fêmeas apresentam maiores variações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos quando comparadas aos machos. Os resultados hematológicos e bioquímicos podem auxiliar estudos futuros servindo de parâmetro comparativo, já que os animais permaneceram em condições ótimas de cultivo durante todo o período experimental.

Palavras-chave: recirculação; hematologia; primeira maturação; tambaqui; reprodução.

ABSTRACT

Growth, first maturation, hematology, blood biochemistry and reproduction of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a water recirculation system

The objective of the present study was to evaluate the growth, first hematological maturation, blood biochemistry and reproduction of *Colossoma macropomum* under controlled conditions. In this way, two experiments were carried out. In the first experiment, growth, gonadal development, first maturation, quality of the first spermiation and reproduction were evaluated. Initially, *C. macropomum* larvae, acquired from a farm located in the state of Pará, were acclimatized and placed in a water recirculation system at the Laboratório de Aquicultura (LAQUA), until they reach the ideal size and weight to start the experiment. 150 animals 155 days after hatching (DAH) were transferred to a tank with a capacity of 3.0 m³ and a static system (27.6±0.5 °C, dissolved oxygen above 4.5 mg/L, total ammonia below 0.5 mg/L and pH between 6.5 and 7.8), fed twice a day with a commercial diet containing 32% crude protein (CP), 7% ethereal extract and 5% fiber, 4-6 mm pellets. Due to rapid growth, with 171 DAH, the animals were divided into two tanks of 3.0 m³ each and remained in this system for 60 days. At 231 DAH, the animals were transferred to a single 23 m³ tank, equipped with a water recirculation system, with temperature control (27.5±0.5 °C), oxygen (> 4.00 mg/L) and photoperiod (12/12), fed twice a day with a commercial diet (32% CP), until the end of the experiment (1080 DAH). Throughout the study, males and females showed gains in weight and length, with no significant difference (P>0.05) observed between the sexes for this parameter. At 590 DAH, the first males were observed in the process of initial maturation and the first females only reached this same stage at 710 DAH. There was a difference (P<0.05) between males and females in the hepatosomatic (HSI) and gonadosomatic indices (GSI). No difference (P>0.05) was observed in the sperm quality analyzed between males of different ages (890 and 990 DAH). At the end of the experiment, 50% of the females that were induced responded positively to the induction and spawned. In the second experiment carried out, we compared the hematological and blood biochemical profile of males and females during the first maturation process. Greater variation in hematological parameters was observed between females of different ages. In the hematological profile, there was a difference (P<0.05) between males and females, only in the erythrocyte count. In the blood biochemical profile, males and females showed differences (P<0.05) only in triglyceride concentrations during the study period. However, within the same sex, but when comparing ages, there was a difference (P<0.05) in the values of

hematocrit, plasma protein, hemoglobin, leukocytes, erythrocytes, glucose, triglycerides and cholesterol in females, and in males it was observed difference in the values of leukocytes, erythrocytes, glucose, triglycerides and cholesterol. Regarding the concentration of FSH and LH in males and females at an advanced stage of maturation, no difference ($P>0.05$) was observed between the sexes. Therefore, with the results obtained in this study, we conclude that it is possible to carry out the complete cultivation cycle of *C. macropmum*, from larviculture to reproduction in a water recirculation system. We also observed that females present greater variations in hematological and biochemical parameters when compared to males. The hematological and biochemical results can assist future studies by serving as a comparative parameter, as the animals remained in optimal cultivation conditions throughout the experimental period.

Keywords: recirculation; hematology; first maturation; tambaqui; reproduction.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Exemplar de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)20

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Sistema de recirculação de água: tanque com volume útil de 23m³, equipado com trocador de calor (A), motobomba de 1/2CV (B), filtro mecânico/decantador (C), filtro biológico (D), bomba centrífuga 1/3CV (E), compressor de ar radial 4CV (F) e difusores de ar espalhados pelo tanque (G)45

Figura 2 - Peso (A) e comprimento (B) médio (média ± desvio padrão) de *Colossoma macropomum* cultivados em sistema de recirculação de água (SRA) durante a maturação sexual. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as diferentes biometrias de cada sexo pela ANOVA seguido de teste de Tukey (5%). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os sexos dos animais e cada biometria pelo teste T-student (5%)50

Figura 3 - Secções transversais de testículos de *C. macropomum* corados por HE: A= 470 DAE, estágio imaturo contendo espermatogônias (setas) distribuídas aleatoriamente; B= 530 DAE, repouso mostrando túbulos seminíferos contendo somente espermatogônias na parede lúmen fechado (*); C= 590 DAE, maturação inicial com túbulos seminíferos com diferentes células da linhagem espermatogênica na parede e lúmen com pequena quantidade de espermatozoides (z); D= 710 DAE, maturação avançada (maduro) com túbulos seminíferos repletos de espermatozoides (z).....53

Figura 4 - Secções transversais de ovários de *C. macropomum* corados por HE: A= 590 DAE, estágio imaturo contendo ninhos de ovogônias (*) e alguns ovócitos (O) em formação distribuídos aleatoriamente; B= 650 DAE, repouso mostrando lamelas ovulíferas contendo ovócito perinucleolar inicial (O1) e perinucleolar avançado (O2); C= 710 DAE, maturação inicial contendo O1, O2 e ovócitos pré vitelogênicos (O3); D= 890 DAE, maturação avançada (maduro) com numerosos ovócitos vitelogênicos (O4), encarte = detalhe de micrópila.....55

Figura 5 - Índice de gordura viscerossomática (A), índice hepatossomático (B) e índice gonadossomático (C) (média ± desvio padrão) de *Colossoma macropomum* cultivados em

sistema recirculação de água (SRA) durante a maturação sexual. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as diferentes biometrias de cada sexo dos animais pela ANOVA seguido de teste de Tukey (5%). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os sexos dos animais e cada biometria pelo teste T de student (5%)
.....56

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Setas pretas indicam a localização das gônadas de machos e fêmeas (A, C, F, G); seta azul indica presença de espermatogônias no testículo de macho imaturo (B); * indica túbulos seminíferos repletos de espermatozoides no testículo do macho em maturação avançada (D); na figura F é possível observar a presença de oócitos em formação inicial (Oc) e ninhos de ovogônias (Og) em fêmea, e na figura H, a presença de oóvitos vitelogênicos no ovário de uma fêmea em maturação avançada.....73

Figura 2 - Valores médios (\pm erro padrão) de hematócrito (A), proteína plasmática (B) e hemoglobina (C) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$)
.....74

Figura 3 - Valores médios (\pm erro padrão) de leucócitos (A) e eritrócitos (B) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$)
.....75

Figura 4 - Valores médios (\pm erro padrão) de glicose (A), colesterol (B) e triglicerídeos (c) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$)
.....76

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Distribuição de *Colossoma macropomum* entre as diferentes fases do experimento e os diferentes tipos de ração fornecida.....43

Tabela 2 - Dados descritivos (média \pm desvio padrão) de biomassa, crescimento e conversão alimentar avaliados de acordo com a fase de crescimento de *Colossoma macropomum* alimentados com ração comercial em sistema de recirculação de água.....49

Tabela 3 - Características histológicas dos testículos de *Colossoma macropomum* durante o crescimento em diferentes estágios de maturação gonadal.....52

Tabela 4 - Características histológicas dos ovários de *Colossoma macropomum* durante o crescimento em diferentes estágios de maturação gonadal.....54

Tabela 5 - Análise espermática realizada no CASA dos machos de *Colossoma macropomum* (biometria 13 e 14)56

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Coleta sanguínea de *Colossoma macropomum* durante o estudo70

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
µl	Microlitro
%	Porcentagem
CA	Conversão Alimentar
CASA	Computer Assisted Sperm Analysis
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CV	Cavalo-vapor
DAE	Dias Após Eclosão
EHC	Extrato Hipofisário de Carpa
FSH	Hormônio Folículo-estimulante
g	Gramas
g/dL	Grama por decilitro
GC	Ganho em comprimento
GnRH	Hormônio liberador das gonadotrofinas
GP	Ganho de peso
GPD	Ganho de peso diário
IGS	Índice gonadosomático
IHS	Índice hepatossomático
Kg	Quilograma
LAQUA	Laboratório de Aquacultura
LH	Hormônio Luteinizante

m ³	Metro cúbico
mg/L	Miligrama por litro
mg/Kg	Miligrama por quilo
mg/dL	Miligrama por decilitro
mL	Mililitro
MP	Motilidade Progressiva
MT	Motilidade Total
NTE	Número Total de Espermatozoides
P.B	Proteína Bruta
pH	Potencial Hidrogeniônico
SRA	Sistema de Recirculação de Água
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VAP	Velocidade de Trajeto
VCL	Velocidade Curvilínea
VSL	Velocidade Progressiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
CAPÍTULO 1	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1. Tambaqui	19
2.2. Maturação gonadal em peixes	20
2.2.1. <i>Índice gonadossomático</i>	23
2.2.2. <i>Índice hepatossomático</i>	23
2.3. Parâmetros hematológicos e bioquímica sanguínea	24
2.3.1. <i>Hematócrito</i>	24
2.3.2. <i>Hemoglobina</i>	25
2.3.3. <i>Eritrócitos</i>	25
2.3.4. <i>Leucócitos totais</i>	25
2.3.5. <i>Proteína plasmática</i>	26
2.3.6. <i>Glicose</i>	26
2.3.7. <i>Triglicérides e colesterol</i>	27
2.4. Sistema de recirculação de água (SRA)	27
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO 2 – Artigo 1: Crescimento, primeira maturação e reprodução do Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i> , Cuvier, 1818) em sistema de recirculação de água	
1. Introdução	41
2. Material e métodos	42
3. Resultados	48
4. Discussão	57
5. Conclusões	61
Agradecimentos	61
Refrências bibliográficas	61

CAPÍTULO 3 – Artigo 2: Existem diferenças na hematologia e bioquímica sanguíneas de machos e fêmeas de <i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier, 1818) durante a maturação sexual em condições controladas?	67
1. Introdução	68
2. Material e métodos	69
3. Resultados	72
4. Discussão	76
5. Conclusões	80
Agradecimentos	80
Referências bibliográficas	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS	87

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura tem demonstrado importante crescimento nos últimos anos, ganhando destaque econômico e ambiental em todo o mundo (FAO, 2023). Devido ao crescimento populacional constante, a demanda por alimento acompanha esse cenário fazendo com que a atividade se torne essencial para prover a demanda por proteína animal de origem sustentável e de boa qualidade nutricional (Naylor et al., 2021). Contudo, apesar dos avanços da tecnologia, evolução na eficiência alimentar e nutrição dos animais, ainda existem gargalos produtivos que necessitam ser melhor elucidados para que a atividade alcance patamares maiores (Mustapha et al., 2021).

Dentre as espécies com potencial produtivo muito promissor dentro da aquicultura, o tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818), é um peixe endêmico da bacia Amazônica. Pertencente à família Characidae, ordem dos Characiformes, pode atingir pesos consideráveis em ambiente natural (Goulding e Carvalho, 1982). Porém, o seu crescimento e desenvolvimento gonadal até atingir a primeira maturação ainda foi pouco estudado em cativeiro.

O domínio do conhecimento, comportamento e manejo reprodutivo de peixes é fator crucial dentro da cadeia produtiva e ambiental (Pires et al., 2018; Júlio et al., 2021). Tal conhecimento pode auxiliar em manejos ambientais, através de atividades como as de repovoamento, que buscam devolver ao ambiente natural, populações que por diversos motivos estão ameaçadas de extinção ou estabelecer um tamanho mínimo para que sejam pescadas (Agostinho et al., 2005; Silva Santos et al., 2015). Em caráter produtivo, saber determinar qual fase de desenvolvimento e maturação sexual se encontra determinado animal através de parâmetros quantitativos é primordial para a escolha e montagem do plantel de reprodutores, otimização da estrutura e mão de obra (Sanchez et al., 2011).

As análises hematológicas e bioquímicas, são fortes aliadas na busca pelo conhecimento mais aprofundado da fisiologia dos peixes, gerando resultados que contribuem para melhorar o bem-estar animal, tanto dentro da cadeia produtiva, quanto no ambiente natural (Baldisserotto, 2013; Fazio, 2019). Estudos sobre densidades de estocagem, nutrição, uso de anestésicos, comportamento reprodutivo, entre outros, são de grande importância para compreender melhor o comportamento dos animais quando estão sob efeito de estresse (Melillo-Filho et al., 2020; Favero et al., 2021; Ferreira et al., 2023; Ananias et al., 2024). E

dessa forma, as análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas auxiliam na identificação de alterações dos níveis metabólicos e no comportamento fisiológicos desses animais (Ranzani-Paiva et al., 2013; Witeska et al., 2022).

Com relação ao comportamento reprodutivo, espécies reofílicas como o tambaqui não desovam naturalmente em cativeiro, sendo necessário o uso de hormônios para estimular a maturação final e desova nas fêmeas e aumentar o volume de sêmen nos machos (Andrade e Yasui, 2003). Dessa forma, buscar identificar em qual faixa de idade e período exato, adultos de tambaqui iniciam o processo de primeira maturação sexual em ambiente controlado, pode otimizar todo o planejamento para obtenção de formas jovens da espécie, fazendo com que seja possível ter um maior controle e produtividade sob o plantel (Almeida et al., 2016).

CAPÍTULO 1

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Tambaqui

O Tambaqui (Figura 1) (*Colossoma macropomum*) (Cuvier, 1818) é um peixe Neotropical, endêmico das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, pertencente à ordem dos Characiformes, subfamília Serrasalminae (Campos-Baca e Kohler, 2005). Cultivado na maioria dos países da América do Sul e Central, como Peru, Venezuela e Colômbia (Chellapa et al., 1995), a espécie também é destaque na cadeia produtiva brasileira com dados de produção superiores a 109 mil toneladas no último ano, sendo a espécie nativa mais produzida no país e a segunda espécie de peixe mais produzida em território nacional, com destaque para a região norte (IBGE, 2023). A rusticidade, disponibilidade de juvenis, desempenho zootécnico e qualidade da carne são algumas das características que chamam atenção da cadeia produtiva, fazendo com que a espécie seja cultivada também em diversos locais pelo mundo, como países do Caribe e asiáticos como a China, Indonésia, Malásia, Mamar e Vietnã (Woynárovich e Van Anrooy, 2019). Seu hábito alimentar é onívoro, em ambiente natural a espécie se alimenta de sementes, frutos e zooplâncton (Araujo-Lima e Goulding, 1998). Já, em cativeiro, os animais em fase larval se alimentam de microcrustáceos e, posteriormente, é fornecida ração comercial (Santos et al., 2021). Por ser uma espécie que pode atingir cerca de 90 cm de comprimento e 30 kg de peso vivo (Filho, 2007), também é muito apreciada para a atividade da pesca esportiva.

Com relação as características morfológicas gonadais de machos e fêmeas de tambaqui, estas estão localizadas na cavidade celomática, próximo a bexiga natatória. Tanto nos machos quanto nas fêmeas, as gônadas estão presente em pares, são muito semelhantes quando os animais estão imaturos e não amadurecem de forma simultânea (Almeida et al., 2016). Na natureza o tambaqui desova naturalmente entre os meses de outubro a dezembro, em águas com temperaturas que variam de 28° a 32°C (Saint-Paul, 1986). Devido ao fato de o tambaqui ser uma espécie reofílica, de fecundação externa e desova total, sua reprodução em cativeiro necessita de utilização de hormônios específicos para induzir a maturação final e desova (Andrade e Yasui, 2003), sendo necessário seguir protocolos de indução hormonal específicos para a espécie (Maria et al., 2012; Leite et al., 2013).

Mesmo com grande importância econômica para a aquicultura brasileira, até o presente momento, apenas um estudo descreve o tempo que machos e fêmeas de tambaqui levam para atingir a primeira maturação sexual em cativeiro, cultivado em tanques escavados (Almeida et al., 2016). Porém, para cultivo da espécie em condições controladas como em sistema de recirculação de água, ainda não se tem registro.



Figura 1. Exemplar de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). (Fonte: Gustavo Soares)

2.2. Maturação gonadal em peixes

O início do processo de maturação sexual em peixes é desencadeado por estímulos externos ambientais como fotoperíodo e temperatura que são captados pelo sistema sensorial dos animais e transmitidos por impulsos neuronais até o hipotálamo (Zmora et al., 2014). A cascata hormonal controlada pelo sistema neuroendócrino atua de forma coordenada, de acordo com a particularidade reprodutiva de cada espécie. O eixo reprodutivo hipotálamo-hipófise-gônadas é responsável por todo esse processo que inclui órgãos, células, hormônios e seus receptores (Levavi-Sivan et al., 2010). Em peixes tropicais, o aumento da temperatura da água estimula a liberação de neuro moduladores como a kisspeptina através do hipotálamo, que determina a síntese e liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que por sua vez, estimula a adenohipófise a produzir e liberar gonadotrofinas: hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (Munakata e Kobayashi, 2010; Zmora et al., 2014). A atuação dessas gonadotrofinas nas gônadas tem papel fundamental no processo reprodutivo, estimulando a síntese de hormônios sexuais (andrógenos, estrógenos e progestágenos). Nas fêmeas, o FSH presente na corrente sanguínea chega até os folículos ovarianos, estimulando o crescimento dos oócitos e desenvolvimento folicular, além de converter o colesterol em testosterona nas células da teca, que posteriormente, é convertido em 17β -estradiol. Esse hormônio entra na corrente sanguínea e age no fígado, estimulando a produção de vitelogenina, que via corrente sanguínea irá promover o crescimento dos oócitos e incorporação do vitelo, que servirá como fonte de alimento nos primeiros dias de vida da larva de peixe (Lister e Van Der Kraak, 2008; Zohar et al., 2010; Honji e Moreira, 2017). Com o aumento dos níveis de 17β -estradiol e testosterona, ocorre um *feedback* negativo, inibindo a produção de FSH e estimulando a secreção de LH. Posteriormente, as células de teca são estimuladas pelo LH a produzir 17α -hidroxiprogesterona, que é convertida em 17α , 20β - dihidroxy-4-pregnen-3-one (17α , 20β -DHP) em um processo enzimático, se tornando o hormônio indutor da maturação final e ovulação, conhecido também com MIS (*Maturation-Inducing Steroid*) (Lubzens et al., 2010 e Baldisserotto, 2013).

Já nos machos, o FSH age na proliferação espermatogonial através das células de Sertoli, sendo esta, a primeira fase da espermatogênese, além de estimular a produção e secreção de andrógenos nas células de Leydig. Ao final do processo de espermatogênese, ocorre uma diminuição da concentração de FSH, que estimula o aumento dos receptores das células de Leydig para o LH, fazendo com que ao final do processo de espermatogênese, ocorra um aumento da quantidade de LH e 17α - 20β -dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17α 20β -P), sendo

essencial para a maturação final dos espermatozoides e a espermição (Ohta et al., 2007; Zohar et al., 2010; Baldisserotto, 2013).

Bazzoli (2003) e Brown-Peterson et al. (2011) sugerem a classificação das gônadas de peixes teleósteos em desenvolvimento nos seguintes estádios:

Imaturo: macroscopicamente as gônadas apresentam tamanho reduzido, são filamentosas e não é possível visualizar oócitos ou espermatozoides. Microscopicamente é possível observar espermatogônias primárias nos machos e ninhos de células germinativas primordiais e algumas ovogônias nas fêmeas.

Repouso: testículos e ovários permanecem com tamanho reduzido, translúcidos, porém já é possível identificar a vascularização nas estruturas. Microscopicamente, os testículos apresentam espermatogônias primárias e secundárias. Nos ovários é possível identificar apenas oócitos perionucleolares em estágio inicial e avançado.

Maturação inicial: neste estágio já é possível observar ovários e testículos aumentados de volume, os testículos com coloração esbranquiçada, e ovários com coloração característica da espécie. Microscopicamente pode-se observar o lúmen dos túbulos seminíferos contendo pequena quantidade de espermatozoides nos testículos e nos ovários a presença de oóvitos em estádios diferentes (inicial, avançado e pré-vitelogênicos).

Maturação avançada/maduro: os testículos atingem seu tamanho máximo, com coloração esbranquiçada e aspecto leitoso, os ovários ficam bastante vascularizados e como numerosos oócitos. Microscopicamente é possível observar o lúmen dos túbulos seminíferos repletos de espermatozoides e nos ovários é possível observar oócitos em variados estádios, dentre eles, numerosos oócitos vitelogênicos núcleo central já aptos para fecundação. Dependendo da espécie, machos e fêmeas maduros/as podem liberar espermatozoides e oócitos apenas com leve pressão na cavidade abdominal.

Desovado/espermiado: nas fêmeas, os ovários diminuem de tamanho, ficam flácidos e hemorrágicos, sendo possível visualizar alguns oócitos, inclusive oócitos atrésicos que são reabsorvidos. Microscopicamente nos ovários identifica-se oócitos em diversos estádios (perinucleolar inicial e avançado, pré-vitelogênicos, vitelogênicos e atrésicos) e folículos pós-ovulatórios. Nos machos, os testículos diminuem de tamanho, apresentam características flácidas com áreas translúcidas e outras esbranquiçadas. Microscopicamente é possível visualizar túbulos seminíferos com lúmen aberto, podendo conter espermatozoides residuais.

2.2.1. Índice gonadossomático

O índice gonadossomático (IGS) é um indicador que está diretamente relacionado ao processo de maturação gonadal, visto que as gônadas de machos e fêmeas sofrem alterações durante todo o ciclo reprodutivo, sendo de suma importância a utilização do IGS para estabelecer a curva de maturação gonadal (Andrade et al., 2006). Segundo Kenagy e Trombulak. (1986), o índice gonadossomático é a porcentagem do peso corporal do animal alocada nas gônadas, sendo representado pela seguinte fórmula:

$$\text{IGS (\%)} = (\text{peso da gônada (g)} / \text{peso do corpo (g)}) \times 100$$

A utilização desse índice em estudos de primeira maturação auxilia na compreensão do ciclo reprodutivo da espécie estudada (Almeida et al., 2016; Melillo-Filho et al., 2020), corroborando também para melhor entendimento de sua biologia reprodutiva (Taranger et al., 2010; Amaral et al., 2019). No ambiente natural, também é possível utilizar o IGS para correlacionar com o período reprodutivo, como demonstrado por Andrade et al. (2006), onde foi observado que machos de piau-vermelho (*Leporinus copelandii*) apresentaram aumento gradativo no IGS com o avanço do estágio do ciclo reprodutivo da espécie, correlacionando esses resultados com a época do ano e temperatura da água no local de captura, definindo qual o mês indicado como pico reprodutivo.

Em estudos em cativeiro, o IGS também pode ser correlacionado com a variação de temperatura e período reprodutivo, como ocorrido para fêmeas de cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), onde Ramagosa et al. (2003) observaram maiores valores de IGS durante o período de maior temperatura avaliado no estudo (novembro a fevereiro). Resultado é semelhante ao encontrado por Amaral et al. (2019) em fêmeas de pirarucu (*Arapaima gigas*), onde o IGS foi maior no período chuvoso e temperaturas mais elevadas (outubro a maio). Contudo, para obtenção do IGS, os animais do estudo devem ser sacrificados para a retirada das gônadas, tornando limitada a utilização desse índice.

2.2.2. Índice hepatossomático

O índice hepatossomático (IHS) é obtido através da equação:

$$\text{IHS (\%)} = (\text{peso do fígado (g)} / \text{peso total (g)}) \times 100$$

Este índice calcula a proporção existente entre o peso do fígado e o peso total do animal, que tende a diminuir quando ocorre uma mobilização de reservas energéticas

(glicogênio hepático), que são transferidas para as gônadas no final do processo de maturação ovocitária e espermiacção, apresentando assim correlação negativa com IGS (Andrade et al., 2006), que também verificado por Almeida et al. (2016) na maturação sexual de machos e fêmeas de *C. macropomum*. Entretanto, o valor do IHS também pode variar independentemente do IGS. Segundo Melillo-Filho et al. (2020), essas variações podem ocorrer devido a mobilização das reservas hepáticas que ocorrem de forma intermitente no organismo do animal, fornecendo os compostos metabólicos necessários para manutenção e desenvolvimento. Dessa forma, a variação do IHS é um dado complementar importante que pode auxiliar para determinação do período reprodutivo.

2.3. Parâmetros hematológicos e bioquímica sanguínea

A hematologia engloba a investigação do sangue e a compilação de conhecimentos relacionados a esse fluido (Grant, 2015). Com as análises hematológicas e bioquímicas é possível obter parâmetros e padronizar valores de sangue total, plasma ou soro, obtendo resultados de nível de glicose e proteína, perfil de colesterol, metabólitos e hormônios, atividades enzimáticas, ente outros (Witeska et al., 2022). Resultados esses que podem sofrer alterações causadas por diversos fatores como altas densidades populacionais, variáveis físicas e químicas da água, deficiência nutricional, presença de agentes tóxicos, presença de patógenos e agente infecciosos, estímulos ao qual o animal foi submetido, biologia e particularidade da espécie, entre outros (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Clauss et al., 2008; Ranzani-Paiva et al., 2013; Fazio, 2019). Porém, para *C. macropomum* até o presente momento não existem dados hematológicos e bioquímicos comparativos entre machos e fêmeas durante o processo de crescimento até a primeira maturação que possam ser usados como referência. Portanto, a seguir serão descritos alguns destes parâmetros e como variações em seus níveis podem ser interpretadas.

2.3.1. Hematócrito

O hematócrito é considerado um dos padrões de análise hematológica mais confiáveis, devido a sua pouca variabilidade e baixa margem de erro. O resultado é apresentado em porcentagem, indicando a proporção de eritrócitos presentes no sangue em relação a quantidade de leucócitos, trombócitos e plasma sanguíneo (Ranzani-Paiva et al., 2013).

Dessa forma, ao analisar os resultados do hematócrito para determinada espécie e observar que esses não estão dentro da faixa ideal estabelecida, é possível que o animal tenha

passado por alguma situação de estresse (Fazio, 2019). Esta alteração na porcentagem do hematócrito de acordo com Tavares-Dias e Moraes (2004), pode ser causada pelo processo de hemoconcentração ou hemodiluição.

2.3.2. Hemoglobina

Proteína de suma importância no processo fisiológico dos peixes, as hemoglobinas são responsáveis por transportar oxigênio até os tecidos periféricos, através do sistema circulatório (Muller et al., 2003). Essas proteínas estão localizadas no interior das hemácias, também chamadas de eritrócitos (Souza e Bonilla-Rodriguez, 2007), responsáveis diretamente pela influência na coloração avermelhada do sangue (Prado et al., 2016). Dentro das análises hematológicas, a concentração de hemoglobina é um importante parâmetro, que pode indicar alterações nas trocas gasosas, quando por exemplo, o animal passa por uma situação de hipóxia (Nikinmaa, 2001; Souza e Bonilla-Rodriguez, 2007). Assim como outros parâmetros, a concentração de hemoglobina em peixes tem alta variabilidade, 4,70 a 16,6 g/dL dependendo da espécie (Fazio, 2019). Porém espécies distintas, mas com idades semelhantes, podem apresentar concentração de hemoglobina parecida, como citado por Witeska et al. (2016), para *Cyprinus carpio* (6,24 – 6,96 g/dL), 6,63 – 8,03 g/dL em *Piaractus brachipomus* (Favero et al., 2022), e 6,19 – 7,19 g/dL em *Colossoma macropomum* (Ananinas et al., 2024).

2.3.3. Eritrócitos

Os eritrócitos são as células sanguíneas presentes em maior número nos peixes (Fänge, 1994). Contudo, segundo Soldatov (2005), a quantidade de eritrócitos varia de acordo com a espécie, influenciada principalmente pelo comportamento e atividade locomotora. Dentro da hematologia, a contagem de eritrócitos é um importante parâmetro que pode ser utilizado para auxiliar no diagnóstico de alterações fisiológicas em peixes, como em situações de hipóxia (Valenzuela et al., 2005). Essas alterações podem ser desencadeadas por estresse, deficiência nutricional, idade ou sexo (Witeska, 2013; Fazio et al., 2019; Witeska et al., 2022). Porém, estabelecer valores de referência para cada espécie é uma tarefa complexa, devido aos diversos fatores que influenciam e dificultam essa padronização citados anteriormente.

2.3.4. Leucócitos totais

Chamados também de glóbulos brancos, os leucócitos, são um grupo de células presentes no organismo dos peixes que estão ligadas diretamente ao sistema imune e são

responsáveis por auxiliar no combate a infecções e processos inflamatórios nos tecidos (Vosylienė, 1999; Ranzani-Paiva e Silva-Souza, 2004). As células leucocitárias podem ser diferenciadas em neutrófilos, eosinófilos, basófilos, célula granulocítica, linfócitos e monócitos (Ranzani-Paiva et al., 2013). Segundo Tavares-Dias e Moraes (2004), a quantificação leucocitária em peixes é importante dentro das análises hematológicas, visto que através desta quantificação, é possível avaliar clinicamente os animais e identificar se o indivíduo está passando por algum processo infeccioso. Contudo, devido a semelhança morfológica entre algumas células leucocitárias e o fato de que os peixes possuem eritrócitos nucleados, a contagem específica de cada célula branca pode produzir falsos resultados e dificultar a identificação e o diagnóstico correto (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Satake et al., 2009). Além disso, a variação da quantidade de células leucocitárias encontradas em diversas espécies dificulta a padronização na identificação de peixes saudáveis (Tavares-Dias et al., 1999).

2.3.5. *Proteína plasmática*

As proteínas plasmáticas desempenham um importante papel no processo fisiológico dos peixes. São responsáveis pelo transporte de hormônios, vitaminas e íons orgânicos e inorgânicos através do plasma sanguíneo (Van Vuren, 1980). Possuem diversas funções, dentre elas a regulação do pH sanguíneo e manutenção do equilíbrio osmótico entre o sangue e as membranas dos tecidos (Das et al., 2006; Fazio et al., 2013). As principais proteínas plasmáticas são a albumina, alfa globulina, beta globulina, gama globulina e fibrinogênio (González e Scheffer, 2003). Assim como os outros parâmetros bioquímicos e hematológicos, a alteração na concentração da proteína plasmática é influenciada por diversos fatores, como ambiente, sexo, idade e densidade de estocagem (Hrubec et al., 2000; Braun et al., 2010; Okoye et al., 2016). Dessa forma, essas variações podem levar a diminuição das concentrações de proteína plasmática (hipoproteinemia), ou aumento das concentrações, chamada de hiperproteinemia (Alisson, 2015; González e Silva, 2017).

2.3.6. *Glicose*

A importância da glicose no organismo está relacionada à sua capacidade de fornecer energia para o funcionamento adequado das células, tecidos e órgãos (Hertz et al., 1989). Além do fornecimento de energia, a glicose é utilizada como parâmetro secundário para indicar o nível de estresse ao qual o animal foi submetido em determinado manejo ou período

(Navarro e Navarro, 2012). Também é de grande importância no período de maturação sexual, onde pode ser utilizada como substrato energético para as atividades metabólicas ligadas a vitelogenese (Kocaman et al., 2005; Tolussi et al., 2018). Dessa forma, a avaliação da concentração de glicose em peixes pode auxiliar na identificação do estágio de maturação gonadal de machos e fêmeas (Zakes et al., 2016; Melillo Filho et al., 2020).

2.3.7. Triglicerídeos e colesterol

Triglicerídeos e colesterol são fontes de energia sintetizadas no fígado e circulantes na corrente sanguínea (Takahashi et al., 2011). Sua função em peixes está relacionada a vários aspectos fisiológicos, incluindo a regulação do metabolismo energético e formação de membranas celulares (Tocher, 2003), além de ser precursor para hormônios esteroides (Okoye et al., 2020). Também são indicadores metabólicos importantes em situações de restrição alimentar (Jia et al., 2018). Esses lipídeos têm função importante no processo de maturação sexual, onde, parte das reservas lipídicas são direcionadas as gônadas para suprir a energia gasta no processo de vitelogenese (Nicula et al., 2010). Desta forma, é comum que sejam observados níveis de concentrações maiores de colesterol e lipídeos nas fases finais de maturação, principalmente nas fêmeas (Yeganeh, 2012; Zakes et al., 2016).

2.4. Sistema de recirculação de água (SRA)

A aquicultura é caracterizada pela alimentação contínua dos organismos em processo produtivo (Mente et al., 2006). No entanto, o excesso de ração pode causar danos aos ambientes aquáticos, bem como prejudicar a atividade respiratória de outros animais presentes, levando-os à morte (Badiola et al., 2012). Esse fenômeno ocorre devido à falta de capacidade dos microrganismos nativos para decompor eficientemente a matéria orgânica, resultando na deterioração da qualidade da água e no crescimento de microrganismos prejudiciais (Zhou et al., 2017; Shao et al., 2019).

Considerando isso, a adoção de sistemas de produção sustentável deve ser ampliada nos próximos anos. Com base nas características essenciais dos animais aquáticos e nos diferentes equipamentos de tratamento de água disponíveis, os sistemas de recirculação de água (SRAs) têm a capacidade de reciclar entre 90% e 99% da água, contribuindo significativamente para a redução da poluição, uma das principais metas da aquicultura sustentável (Badiola et al., 2012).

O SRA permite um maior adensamento de animais por metro cúbico, enquanto reduz o consumo de água. Isso torna o cultivo mais intensivo, graças ao eficaz controle de temperatura e oxigênio, bem como ao tratamento dos resíduos produzidos pelos animais e à conversão dos compostos nitrogenados (Dalsgaard et al., 2013; Lekang, 2013; Farias Lima et al., 2019; Shao et al., 2019).

Os SRAs podem variar em suas estruturas de montagem, mas seus objetivos e mecanismos são essencialmente os mesmos. Esses sistemas consistem em biofiltros nitrificantes, onde microorganismos responsáveis pelo tratamento da água se fixam e crescem na superfície de estruturas conhecidas como "mídias biológicas". Isso permite a oxidação do nitrogênio amoniacal total (NAT) e do nitrito (NO_2^-) para nitrato (NO_3^-) (Shitu et al., 2020, Shitu et al., 2021). A amônia e o nitrito (NO_2^-), provenientes principalmente de resíduos da aquicultura e do metabolismo animal, são duas toxinas agudas perigosas para os animais aquáticos (Crab et al., 2007; Avnimelech, 2012). Além disso, esses sistemas geralmente incluem outros componentes, como dispositivos de remoção de sólidos, e alguns são equipados com biofiltros desnitrificantes para remover o nitrito, proporcionando aos animais um ambiente positivo para seu crescimento e desenvolvimento (Badiola et al., 2018; Xiao et al., 2019; Yogev et al., 2020).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a idade, crescimento, fisiologia e tamanho de primeira maturação gonadal em tambaqui alimentados com ração comercial, em sistema de recirculação de água.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar a engorda e avaliar o desempenho do tambaqui até o momento de primeira maturação;
- Estimar do tamanho e idade de primeira maturação do tambaqui;
- Determinar IHS e IGS do tambaqui em diferentes estádios de desenvolvimento;
- Verificar parâmetros hematológicos e bioquímicos sanguíneos, relativos à idade e o sexo durante o crescimento do tambaqui;
- Avaliar a qualidade espermática dos machos de tambaqui;
- Verificar o sucesso reprodutivo desses animais.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservação da Biodiversidade em águas continentais do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, p. 70-78, 2005.
- ALISSON, R. W. Avaliação Laboratorial das Proteínas do Plasma e do Soro Sanguíneo. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, p. 398-411, 2015.
- ALMEIDA, F.L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.2, p.174-180, 2013.
- ALMEIDA, F. *et al.* Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. **Aquaculture**, v.452, p. 224–232, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.10.031>>.
- AMARAL, J. S.; VENTURIERI, R. L.; MOREIRA, R. G. Gonadal steroids and energy availability during ovarian maturation stages of the Amazonian pirarucu *Arapaima gigas* (Teleostei: Osteoglossidae) in the wild. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 230, p. 106–114, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.01.008>>
- ANANIAS, I. M. C. *et al.* Tambaqui Production at Different Stocking Densities in RAS: Growth and Physiology. **Fishes**, v. 9, p. 1-13, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/fishes9010019>>.
- ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. Manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 166–172, 2003.
- ANDRADE, D. R. *et al.* Acompanhamento de um ciclo reprodutivo anual em machos de piau-vermelho (*Leporinus copelandii*, Pisces, Anostomidae) em ambiente natural. **Revista Ceres**, v. 53, n. 305, p. 45-53, 2006.
- ARAÚJO LIMA, C.; GOULDING, M. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá, 1998.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc-based aquaculture systems. *Aquaculture production systems*, 2012.

- BADIOLA, M.; MENDIOLA, D.; BOSTOCK, J. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*, v. 51, p. 26–35, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.07.004>>.
- BADIOLA, M. *et al.* Energy use in Recirculating Aquaculture Systems (RAS): A review. ***Aquacultural Engineering***, v. 81, n. March, p. 57–70, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.03.003>>.
- BALDISSEROTTO, B. *Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura*. Santa Maria: Editora UFSM, 3.ed. p.352, 2013.
- BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. In: Godinho HP, Godinho AL (Org.). **Águas, peixes e pescadores do São Francisco da Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, cap. 15, p. 291-306, 2003.
- BRAUN, N. *et al.* Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. ***Aquaculture***, v. 301, p. 22-30, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.022>>.
- BROWN-PETERSON, N. J. *et al.* A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. ***Marine and Coastal Fisheries***, v. 3, p. 52-70, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/19425120.2011.555724>>.
- CAMPOS-BACA, L.; KOHLER, C. C. Aquaculture of *Colossoma macropomum* and Related Species in Latin America. ***American Fisheries Society Symposium***, v. 46, p. 541-560, 2005.
- CHELLAPA, S. *et al.* Growth and production of the Amazonian tambaqui in fixed cages under diferente feeding regimes. ***Aquaculture International***, v. 3, p. 11–21, 1995. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF00240917>>.
- CLAUSS, T. M.; DOVE, A. D. M.; ARNOLD, J. E. Hematologic disorders of fish. ***Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice***, v. 11, p. 445–462, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>>.
- CRAB, R. *et al.* Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. ***Aquaculture***, v. 270, n. 1–4, p. 1–14, 2007.
- DALSGAARD, J. *et al.* Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives. ***Aquaculture Engineering***, v. 53, p. 2–13, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.008>>.

DAS, P. C.; AYYAPPAN, S.; JENA, J. K. Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. **Aquaculture**, v. 256, p. 80-87, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.019>>.

FARIAS LIMA, J. Recirculating system using biological aerated filters on tambaqui fingerling farming. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, e00294, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2019.V54.00294>>.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S.; Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Anais do I **Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre, p. 73-89, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Bioquímica clínica de proteínas e compostos nitrogenados. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. 1982. Life history and management of the Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.1, p. 107-133. Disponível em: <<http://doi.org/10.1590/S0101-81751982000200001>>.

FANGE, R. Blood cells, haemopoiesis and lymphomyeloid tissues in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 4, p. 405–411, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/fsim.1994.1036>>.

FAVERO, G. C. *et al.* Effects of short feed restriction cycles in *Piaractus brachypomus* juveniles. **Aquaculture**, v. 536, p. 736465, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736465>>.

FAVERO, G. C. *et al.* Effects of water temperature and feeding time on growth performance and physiological parameters of *Piaractus brachypomus* juveniles, **Aquaculture**, v. 548, p. 737716, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737716>>.

FAO. 2023. Report of the Thirty-fifth Session of the Committee on Fisheries, Rome, 5–9 September 2022. **FAO Fisheries and Aquaculture Report**, No. 1391. Rome. Disponível em: <<https://doi.org/10.4060/cc3652en>>.

FAZIO, F. *et al.* Haematological and serum protein profiles of *Mugil cephalus*: effect of two different habitats. **Ichthyological Research**, v. 60, p. 36-42, 2013. Disponível em: <<http://doi.org/10.1007/s10228-012-0303-1>>.

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237-242, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>>.

FERREIRA, A. L. *et al.* Hesperozygis ringens essential oil as an anesthetic for *Colossoma macropomum* during biometric handling. **Ciência Rural**, Santa Maria, v, 53, n.9, e20220264, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220264>>.

FILHO, J. C. Tambaqui o rei de Rondônia. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 17, p. 56-60, 2007.

GRANT, K. R. Fish Hematology and Associated Disorders. **Veterinary Clinics of North America – Exotic Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 83-103, 2015. Disponível em: <<http://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.007>>.

HERTZ, Y. *et al.* Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): the effects of cobalt and chromium. **Aquaculture**, v. 76, p. 255-267, 1989. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90079-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90079-3)>.

HONJI, R. M.; MOREIRA, R. G. Controle neuroendócrino da ovogênese em peixes teleósteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 86-93, 2017.

HRUBEC, T. C.; CARDINALE, J. L.; SMITH, S. Haematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 29, p. 7-12, 2000. Disponível em: <<http://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2000.tb00389.x>>.

IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2022; Rio de Janeiro: IBGE, 2023 Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>>.

JIA, Y. *et al.* Determination of optimal fasting time before blood sampling to get baseline data on serum biochemical characteristics in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 487, p.83-88, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.009>>.

JÚLIO, G. S. C. *et al.* Reproductive behaviour and the effects of substrate on the reproduction of annual killifish (*Hypsolebias flagellatus*). **Aquaculture Research**, v. 00, p. 1–10, 2021. Disponível em: <<http://doi.org/10.1111/are.15365>>.

KENAGY, G. J.; TROMBULAK, S. C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**, v. 67, p. 1-22, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.2307/1380997>>.

KOCAMAN E. M. *et al.* Alterations in cholesterol, glucose and triglyceride levels in reproduction of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 4, n. 9, p. 801-804, 2005.

LEITE, L. V. *et al.* Determinação da dose inseminante e embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.421-429, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000200018>>.

LEKANG, O. I. **Aquaculture Engineering**. 2nd ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 432p, 2013.

LEVAVI-SIVAN, B. *et al.* Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.412-437, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.07.019>>.

LISTER, A. L.; VAN DER KRAAK, G. An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation. **General and Comparative Endocrinology**, v.159, p.46-57, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.07.017>>.

LUBZENS, E. *et al.* Oogenesis in teleost: how fish eggs are formed. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 367-389, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022>>.

MARIA, A. N. *et al.* Hormonal induction and characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. **Zygote**, v. 20, p. 39–43, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0967199410000559>>.

MELILLO FILHO, R. *et al.* Rearing and maturation of *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876) in controlled conditions: First reports and future perspective. **Animal**

Reproduction Science, v. 214, p. 106311, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106311>>.

MENTE, E. et al. Effect of feed and feeding in the culture of salmonids on the marine aquatic environment: A synthesis for European aquaculture. *Aquaculture International*, v. 14, n. 5, p. 499–522, 2006.

MULLER, G.; FAGO, A.; WEBER, R. E. Water regulates oxygen binding in hagfish (*Myxine glutinosa*) hemoglobin. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 1389- 1395, 2003. Disponível em: <<http://doi.org/10.1242/jeb.00278>>.

MUNAKATA A.; KOBAYASHI, M. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.465-468, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.04.011>>.

MUSTAPHA, U. F. *et al.* Sustainable aquaculture development: a review on the roles of cloud computing, internet of things and artificial intelligence (CIA). **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 4, p. 2076–2091, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/raq.12559>>.

NAVARRO, F. K. S. P.; NAVARRO, R. D. Importância do fotoperíodo no crescimento e na reprodução de peixes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, p.94-99. 2012.

NAYLOR, R. L. *et al.* A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, p. 551–563, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>>.

NICULA, M. *et al.* Researches concerning reference values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from Acipenseridae, Cyprinidae, Esocidae and Salmonidae family. **Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies**, v.43, n.1, p.498-505, 2010.

NIKINMAA, M. Haemoglobin function in vertebrates: evolutionary changes in cellular regulation in hypoxia. **Respiration Physiology**, v. 128, p. 317-329, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0034-5687\(01\)00309-7](https://doi.org/10.1016/S0034-5687(01)00309-7)>.

OHTA, T. *et al.* Follicle-stimulating hormone induces spermatogenesis mediated by androgen production in Japanese Eel, *Anguilla japonica*. **Biology of Reproduction**, v. 77, p. 970-977, 2007. Disponível em: <<http://doi.org/10.1095/biolreprod.107.062299>>.

OKOYE, C. N. *et al.* Reference intervals for the serum biochemistry and lipid profile of male broodstock African catfish (*Clarias gariepinus*: Burchell, 1822) at varied ages. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 8, n. 4, p. 437-443, 2016. Disponível em: <<http://doi.org/10.15835/nsb.8.4.9851>>.

OKOYE, C. N. *et al.* Evaluation of induced spawning on oocyte characteristics and serum biochemistry of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Comparative Clinical Pathology**, v. 29, n. 1, p. 103-114, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00580-019-03038-2>>.

PIRES, L. B. *et al.* *Colossoma macropomum* females can reproduce more than once in the same reproductive period, **Animal Reproduction Science**, v. 196, p. 138-142, 2018. Disponível em: <<http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.07.006>>.

PRADO, R. R. *et al.* Eritrograma em Medicina Veterinária: Apostila. **PUBVET**, v. 10, n.1, p. 61-82, 2016. ISSN: 1982- 1263.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Ed. Livraria Varela, São Paulo. 442 p. 2004.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. *et al.* 2013. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 1ª ed. 140 p. ISBN: 978-85- 7628-530-4.

ROMAGOSA, E. *et al.* Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae), mantidas em cativeiro. **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 29, p. 151-159, 2003.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American fresh water fishes: review. **Aquaculture**, v. 54, p. 205-240, 1986. Disponível em: <[http://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90329-7](http://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90329-7)>.

SANCHES, E. A. *et al.* Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 6, p. 1163-1167, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600001>>.

SANTOS, F. A. C.; JULIO, G. S. C.; LUZ, R. K. Stocking density in *Colossoma macropomum* larviculture, a Stocking density in *Colossoma macropomum* larviculture, a freshwater fish, in recirculating aquaculture system **Aquaculture research**, v. 52, p. 1185–1191, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/are.14976>>.

SATAKE, F.; PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In.: TAVARES-DI AS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. 1º ed. Macapá: Embrapa Amapá, p. 330-345, 2009.

SHAO, T. et al. Evaluation of the effects of different stocking densities on growth and stress responses of juvenile hybrid grouper ♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus* in recirculating aquaculture systems. **Journal of Fish Biology**, v. 95, p. 1022–1029, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jfb.14093>>.

SHITU, A. et al. Performance of novel sponge biocarrier in MBBR treating recirculating aquaculture systems wastewater: Microbial community and kinetic study. **Journal of Environmental Management**, v. 275, n. April, p. 111264, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111264>>.

SHITU, A. et al. Recent advances in application of moving bed bioreactors for wastewater treatment from recirculating aquaculture systems: A review. **Aquaculture and Fisheries**, n. April, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.04.006>>.

SILVA SANTOS, R. *et al.* O tamanho de primeira maturação como parâmetro para estabelecimento de tamanho mínimo de captura para corvina no Sudeste do Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**, v.41, n.3, p.507-518, 2015.

SOLDATOV, A. A. Peculiarities of Organization and Functioning of the Fish Red Blood System. **Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology**, v. 41, p. 272–281, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10893-005-0060-0>>.

SOUZA, P.C.; BONILLA-RODRIGUEZ, G.O. Fish hemoglobins. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 769–778, 2007. Disponível em: <<http://doi.org/10.1590/S0100-879X2007000600004>>.

TAKAHASHI, L.S.; BILLER, J. D.; URBINATI, E. C. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: Effects on farmed pacu production. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 95, p. 259–266, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01050.x>>.

TARANGER, G. L. *et al.* Control of puberty in farmed fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 483–515, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.004>>.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematologia de peixes teleósteos. **Ed. Eletrônica e Arte Final**. Ribeirão Preto – SP. 144 páginas, 2004.

TOCHER, D. R.; Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, n. 2, p. 107–184, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/713610925>>.

TOLUSSI, C. E. *et al.* Mobilization of energetic substrates in the endangered catfish *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae): changes in annual reproductive cycle in captivity. **Neotropical Ichthyology**, v.16, n.2, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170120>>.

VALENZUELA, A. *et al.* Effect of Acute Hypoxia in Trout (*Oncorhynchus mykiss*) on Immature Erythrocyte Release and Production of Oxidative Radicals, **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 31, p. 65–72, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10695-005-5288-5>>.

VAN VUREN, J. H. J. The plasma proteins of some freshwater fish in their natural environment. **Journal of the Limnological Society of Southern Africa**, v. 6, n. 2, p. 96-100, 1980. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03779688.1980.9634553>>.

VOSYLIENĖ, M. Z. The effects of heavy metals on haematological anguín of fish (Survey). **Acta Zoologica Lituanica**, v. 9, p. 76-82, 1999.

WOYNÁROVICH, A.; VAN ANROOY, R. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, v. 624, p. 1-121, 2019.

WITESKA, M. Erythrocytes in teleost fishes: a review. **Zoology and Ecology**, v. 23, n. 4, p. 275–281, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/21658005.2013.846963>>.

WITESKA, M.; LUGOWSKA, K.; KONDERA, E. Reference values of hematological parameters for juvenile *Cyprinus carpio*. **Fish Pathology**, v. 36, n. 4, p. 169–180, 2016.

WITESKA, M. *et al.* Hematological methods in fish – Not only for beginners. **Aquaculture**, v. 50, p. 547, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>>.

XIAO, R. *et al.* A review on the research status and development trend of equipment in water treatment processes of recirculating aquaculture systems. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 863–895, 2019.

YARON, Z.; LEVAVI-SIVAN, B. Endocrine regulation of fish reproduction. **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**, v. 2, p. 1500-1508, 2011.

YEGANEH, S. Seasonal changes of blood serum biochemistry in relation to sexual maturation of female common carp. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, p. 1059-1063, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00580-011-1229-0>>.

YOGEV, U. et al. Potential environmental impact resulting from biased fish sampling in intensive aquaculture operations. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 135630, 2020.

ZAKES, Z. *et al.* Impact of sex and diet on hematological and blood plasma biochemical profiles and liver histology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). **Archives of Polish Fisheries**, v. 24, p. 61-68, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/aopf-2016-0007>>.

ZMORA, N. *et al.* The medio-basal hypothalamus as a dynamic and plastic reproduction-related kisspeptin-gnrh-pituitary center in fish. **Endocrinology**, v.155, n. 5, p. 1874-1886, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1210/en.2013-1894>>.

ZOHAR Y. *et al.* Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.438-455, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.04.017>>.

ZHOU, C. *et al.* Near-infrared imaging to quantify the feeding behavior of fish in aquaculture. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 135, p. 233–241, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2017.02.013>.

CAPÍTULO 2 – Artigo 1

Crescimento, primeira maturação e reprodução do Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) em sistema de recirculação de água

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o crescimento, desenvolvimento gonadal, primeira maturação, qualidade da primeira espermição e sucesso reprodutivo de *C. macropomum* criados em condições controladas. Os animais foram mantidos em mesmas condições durante todo o experimento. Os animais apresentaram crescimento em peso final, ganho em peso e comprimento durante todo o estudo. Após o primeiro, segundo e terceiro ano os animais atingiram peso médio de 0,94 Kg (menor 0,50 e maior 1,42 kg), 3,78 Kg (menor 3,02 e maior 5,19 kg) e 5,66 Kg (menor 3,88 e maior 8,17 kg). A maior biomassa atingida foi aos 890 DAE (total de 14,1 kg/m³), sendo que ao final esta foi de 5,6 kg/m³. A conversão alimentar se manteve abaixo de 2 durante todo o estudo. Ao comparar machos e fêmeas de mesma idade, não foi verificada diferenças para o peso e comprimento ($P>0,05$). Com 590 dias após a eclosão (DAE) dos três machos analisados, 1 estava em repouso e 2 em maturação inicial. A maturação avançada foi registrada após 710 DAE. Após 710 DAE dias as seis fêmeas apresentavam maturação inicial. A maturação avançada foi registrada após 890 DAE nas duas fêmeas analisadas. Resultados dos dados de IGVS, IHS e IGS são apresentados durante o desenvolvimento dos animais. A comparação da qualidade espermática dos machos após 890 e 990 DAE não mostrou diferenças entre as idades para os parâmetros avaliados (tabela 5). Das 4 fêmeas induzidas, duas desovaram. Este trabalho mostra pela primeira vez que é possível realizar todo o ciclo de vida do *C. macropomum*, desde o cultivo das larvas até a reprodução com sucesso quando os animais são criados em laboratório em sistema de recirculação de água.

Palavras-chave: tambaqui; reprodução; maturação sexual; gônadas.

1. INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento global da aquicultura mundial, a demanda tem sido cada vez maior por alimentos produzidos de forma sustentável. No entanto, a produção aquícola enfrenta gargalos em algumas fases do setor, como na formação de plantel de reprodutores e por consequência, na produção de formas jovens (Amoussou et al., 2022). Para solucionar essa questão, é necessário compreender a biologia reprodutiva das espécies que são utilizadas na produção, a fim de otimizar e buscar alternativas de manejo para aumentar a produção de gametas viáveis (Pires et al., 2018). Dessa forma, estudos relacionados a primeira maturação são de suma importância, já que esse estágio em peixes é considerado um marco no ciclo de vida do animal, dando início a sua fase adulta (Almeida et al., 2016), assim como é importante caracterizar animais que já estão aptos a iniciar o processo reprodutivo, selecionando de forma correta sem que haja prejuízo ao bem-estar (Rebouças et al., 2014).

O tempo que os animais levam para atingir a primeira maturidade sexual, também é um ponto importante, já que o desenvolvimento gonadal vem acompanhado de alterações fisiológicas, na estrutura das gônadas e possíveis problemas como a diminuição da taxa de crescimento, alteração no comportamento e no sistema imunológico, tornando-o susceptível à entrada de patógenos (Taranger et al., 2010; Quagio-Grassiotto et al., 2013). No decorrer de todos os processos de maturação, as gônadas vão sofrendo alterações morfológicas, aumentando de tamanho e ficando mais vascularizadas com a presença de oócitos vitelogênicos no caso das fêmeas, e nos machos, os testículos também aumentam de tamanho, onde é possível observar o lúmen dos túbulos seminíferos grande quantidade de espermatozoides (Bazzoli, 2003; Melillo Filho et al., 2020).

Diversos processos complexos também são iniciados na fase de maturação final como o aumento na produção de hormônios, dando início à gametogênese e espermatogênese e mudança de comportamento das fêmeas e machos (Lubzens et al., 2010; Schulz et al., 2010). Todo o processo de maturação sexual é interligado, que se inicia através de estímulos ambientais externos como fotoperíodo (Li et al., 2023) e temperatura da água (Gonçalves Junior et al., 2022). Esses estímulos são captados por quimiorreceptores e chegam ao eixo hipotálamo-hipofisário, onde se inicia a produção de hormônios sexuais (Almeida, 2013). Macroscopicamente, é possível observar as fêmeas que já estão maduras quando suas papilas genitais estão avermelhadas e a cavidade celomática abaulada, indicando estágio de maturação avançada (Sevignani, et al., 2020). Nos machos, basta realizar a massagem sentido

crânio-caudal e observar no poro genital a saída de líquido esbranquiçado e viscoso, indicando que o macho se encontra apto para reprodução (Bazzoli, 2003).

O Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier 1818, é uma espécie de peixe encontrada na América do Sul, especificamente na bacia amazônica. Pertencente à família Characidae, ordem dos Characiformes, pode atingir até um metro de comprimento e pesar 30 kg (Goulding e Carvalho 1982). É reofílico, necessitando de realizar migração para se reproduzir na natureza, fato que ocorre nas épocas mais quentes do ano, sendo que em cativeiro é necessário ser induzido através de doses hormonais para estimular a gametogênese (Goulding e Carvalho 1982; Chellappa et al., 1996; Pires et al., 2019; Sevignani et al., 2020). Dados recentes demonstraram a importância desta espécie sendo o peixe nativo mais produzido no Brasil, perdendo apenas para a tilápia (*Oreochromis niloticus*) (IBGE, 2023). Na literatura, um único estudo feito até o presente momento com tambaqui mantidos em viveiros escavados, relata que em machos, os primeiros indícios de espermatogênese iniciaram em animais com 5 meses, pesando em média 750,0g e em fêmeas pode-se observar o início da foliculogênese em animais de 7 meses de idade, pesando aproximadamente 1.200g (Almeida et al., 2016). Porém, em sistema de recirculação de água (SRA), ainda não existe nenhum estudo sobre maturação inicial desta espécie.

Dessa forma, utilizar esse tipo de sistema de cultivo para avaliar o crescimento e desenvolvimento gonadal de peixes, abre nova possibilidade dentro do cenário da produção aquícola. O RAS possibilita maior adensamento de animais por metro cúbico, com redução do consumo de água, fazendo com que o cultivo se torne mais intensivo, devido ao controle eficaz de temperatura e oxigênio, além do tratamento dos resíduos gerados pelos próprios animais e conversão dos compostos nitrogenados (Dalsgaard et al., 2013; Lekang, 2013; Farias Lima et al., 2019; Shao et al., 2019).

O objetivo desse estudo foi avaliar o crescimento, desenvolvimento gonadal, primeira maturação, qualidade da primeira espermição e sucesso reprodutivo de *C. macropomum* criados em SRA.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Aquicultura (LAQUA) da Universidade Federal de Minas Gerais, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (Protocolo 80/2021, Belo Horizonte, Brasil).

2.1. Produção de juvenis

Juvenis de *C. macropomum* com 50 dias após a eclosão (DAE), com peso médio de 0,10 g, provenientes da Fazenda Tataueira – Zona rural de Peixe boi no estado do Pará, foram aclimatados e divididos igualmente em 16 tanques em sistema de recirculação de água. A temperatura foi mantida entre $27,5 \pm 0,4$ °C, oxigênio dissolvido em $4,5 \pm 0,5$ mg/L e amônia total em $0,5 \pm 0,1$ mg/L. Os peixes foram mantidos nos tanques até atingir o tamanho para iniciar a fase de crescimento. Os animais foram alimentados com ração farelada contendo 46% PB, 9% de extrato etéreo e 3,5% de fibra bruta três vezes ao dia (09:00, 13:00 e 17:00 h), até atingirem aproximadamente 5,0 g, quando passaram a receber ração extrusada de 1,8mm contendo 40% de proteína bruta, 7,5 % de extrato etéreo e 4,0% de fibra bruta, segundo dados dos fabricantes.

2.2. Fase de crescimento e primeira maturação

A Tabela 1, sumariza as biometrias, tamanho dos tanques, n amostral e as dietas utilizadas durante a fase de crescimento e primeira maturação.

Tabela 1. Distribuição de *Colossoma macropomum* entre as diferentes fases do experimento e os diferentes tipos de ração fornecida.

Biometrias	Duração (DAE¹)	Nº tanques	Volume do tanque (m³)	N amostral	Ø pellet (mm)	PB² (%)
1	155 a 170	1	3	-	4-6	32
2	171 a 200	2	3	-	4-6	32
3	201 a 230	2	3	-	4-6	32
4	231 a 290*	1	23	10	4-6	32
5	291 a 350	1	23	10	4-6	32
6	351 a 410	1	23	10	4-6	32
7	411 a 470	1	23	10	4-6	32
8	471 a 530	1	23	10	4-6	32
9	531 a 590	1	23	10	4-6	32
10	591 a 650	1	23	10	6-8	32
11	651 a 710	1	23	10	6-8	32
12	711 a 800	1	23	10	6-8	32

13	801 a 890	1	23	10	6-8	32
14	891 a 946	1	23	10	6-8	32
15	947 a 990	1	23	7	6-8	32
16	991 a 1080	1	23	7	6-8	32

¹DAE; dias após eclosão.

² PB; proteína bruta da ração.

* A partir desta biometria foram realizadas coleta das gônadas.

Aos 155 DAE, 150 animais com peso médio de $56,54 \pm 22,59$ g e comprimento médio de $14,44 \pm 1,57$ cm, foram transferidos para um tanque de 3 m³ em sistema estático e termostatizado ($27,6 \pm 0,5$ °C, oxigênio dissolvido mantido em $4,0 \pm 0,5$ mg/L, amônia total de $0,5 \pm 0,1$ mg/L e pH de $6,5 \pm 0,5$). Os parâmetros de qualidade da água foram verificados diariamente com um medidor multiparâmetro Asko AK88[®]. Os peixes foram alimentados com dieta comercial contendo 32%PB, 7% de extrato etéreo e 5% de fibra, pellets de 4-6 mm (dados do fabricante), duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 hs) *ad libitum*, durante 15 dias. Devido ao rápido crescimento, com 171 DAE, os animais foram divididos em dois tanques de 3 m³ como descrito anteriormente, onde permaneceram por mais 60 dias.

Com 231 DAE, os animais foram transferidos para um tanque de 23 m³ equipado com sistema de recirculação de água e controle de temperatura (Figura 1). Nesse tanque a temperatura foi mantida em $27,5 \pm 0,7$ °C, oxigênio dissolvido em $4,0 \pm 0,5$ mg/L, amônia total em $0,5 \pm 0,1$ mg/L e pH em $6,7 \pm 0,5$. Os animais foram alimentados com dieta comercial de 4-6 mm contendo 32% PB na frequência de duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 hs) até 590 DAE. Após este período, foi oferecido dieta de 32% PB de 6 – 8 mm até o final do experimento, com 1080 DAE.

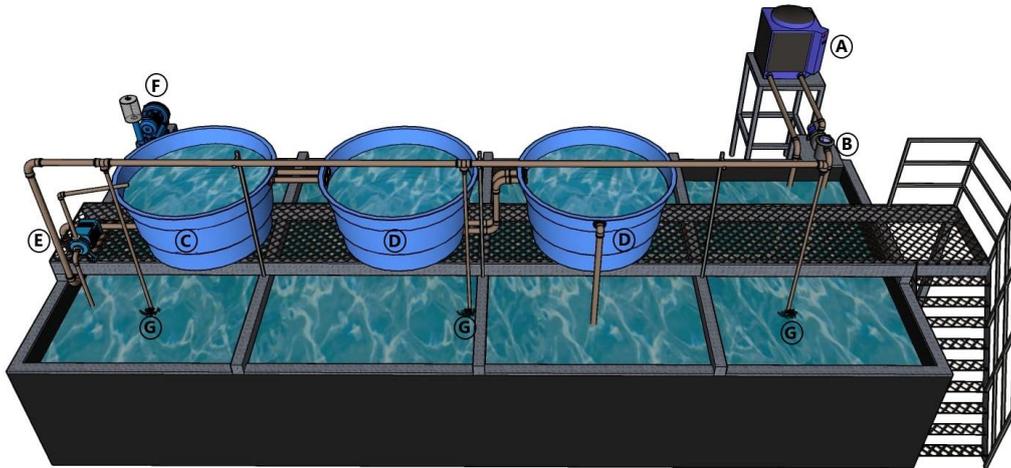


Figura 1. Sistema de recirculação de água: tanque com volume útil de 23m³, equipado com trocador de calor Nautilus® AA-45 série Aquahot Automatic (A), motobomba Nautilus® Nbf-2 de 1/2CV (B), filtro mecânico/decantador com capacidade total de 1m³ (C), filtro biológico com capacidade total de 1m³ cada, equipado com mídia biológica com área superficial de 800 m²/m³, ocupando 2/3 da capacidade total de cada filtro (D), bomba centrífuga Dancor® sem pré-filtro 1/3CV (E), compressor radial 4CV trifásico (F) e difusores de ar espalhados pelo tanque (G). Crédito da imagem: Helder Guilherme.

O consumo de ração foi avaliado, sendo as sobras recolhidas diariamente, 30 minutos após a alimentação, e posteriormente secas em estufa a 56°C para a determinação do consumo de alimento.

Devido ao crescimento dos animais e a alta biomassa, na biometria 13 foram retirados do tanque 7 animais, enquanto que na biometria 14 foram retirados 8 animais aleatoriamente. Machos que liberaram sêmen, também foram estocados em outro tanque.

Após esse período, os animais restantes foram mantidos no mesmo tanque até 1350 DAE, quando foi realizada a indução hormonal.

2.3. Avaliação do crescimento animal

A partir dos dados de peso, comprimento e consumo de ração, foram calculados:

- Ganho de peso (g) (GP) = peso final – peso inicial médio;
- Ganho de peso diário (g/dia) (GPD) = ganho de peso médio/dias de experimento;
- Ganho médio de comprimento (cm) (GC) = comprimento médio final – comprimento médio inicial;
- Conversão alimentar (CA) = consumo de ração/ ganho de biomassa.

2.4. Desenvolvimento gonadal e índices

As coletas de gônadas iniciaram aos 290 DAE (biometria 4) (Tabela 1). Treze coletas foram realizadas durante o experimento. A cada biometria (Tabela 1) foram coletados, aleatoriamente, 10 animais. Porém, nas duas últimas biometrias (990 e 1080 DAE) foram coletados 7 animais em cada. Os animais, após a coleta de sangue foram eutanasiados com solução de eugenol (285 mg / L) (Protocolo CEUA 396/2012). As gônadas e o fígado foram removidos através de uma incisão longitudinal feita na parte inferior, sentido caudo-cranial a partir do poro urogenital. As vísceras, gônadas e fígado foram pesados para determinação dos índices. O índice gonadossomático (IGS) foi calculado para cada indivíduo usando a seguinte fórmula:

$$IGS (\%) = (Pg / Pt) \times 100$$

onde Pg representa o peso das gônadas e Pt representa o peso corporal total (Vazzoler, 1996).

O índice hepatossomático (IHS) foi calculado para cada indivíduo usando a seguinte fórmula:

$$IHS (\%) = (Pf / Pt) \times 100$$

onde, Pf representa o peso do fígado, e Pt o peso corporal total de cada indivíduo (Silva et al., 2015).

O índice viscerossomático foi calculado individualmente utilizando a seguinte fórmula:

$$IVS (\%) = (Pv / Pt) \times 100$$

onde Pv representa o peso das vísceras, e Pt o peso total do indivíduo (Silva et al., 2015).

O índice de gordura visceral foi calculado individualmente utilizando a seguinte fórmula:

$$IGVS (\%) = (Pgor / Pt) \times 100$$

onde $Pgor$ representa o peso da gordura retirada das vísceras, e Pt o peso total do indivíduo (Silva et al., 2015).

Para avaliação do desenvolvimento gonadal, as amostras foram fixadas em solução de Bouin por 24 horas e transferidas para álcool 70% até processamento histológico de rotina com inclusão de parafina através de desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanização em xilol e coloração com Hematoxilina-Eosina. A microtomia foi realizada com espessura de 5-7 μ m sob microscópio óptico. A análise biométrica foi realizada usando um estereomicroscópio e um critério de luz (Olympus BX50 acoplado a uma câmera Olympus SC-30.) As seguintes especificidades foram feitas no software Olympus CELL.

2.5. Avaliação seminal

Durante as biometrias, foi realizada massagem abdominal no sentido cefalo-caudal para identificar a liberação de sêmen. Na 13ª biometria, foi feita a primeira coleta de sêmen para análise. Os machos estavam com 890 DAE, e foi coletado material de cinco animais. Na 14ª biometria foram identificados mais 6 animais. Os animais foram contidos com um pano úmido e a coleta do material foi feita com micropipeta automática seguindo o protocolo descrito por Poupard et al. (1998). Em seguida o material foi armazenado em uma caixa térmica com gelo e levado para análise no laboratório de reprodução. Amostras de sêmen foram ativadas utilizando água destilada na proporção de 10:200µl (sêmen:água destilada), 5 µl do sêmen ativado foi colocado na câmara de Makler e inserido no microscópio Nikon Eclipse Ci® para a avaliação de motilidade, Velocidade curvilinear (VCL), velocidade progressiva (VSL) e velocidade de trajeto (VAP) através de análise computadorizada utilizando o software CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) de acordo com a metodologia descrita por Verstegen et al. (2002).

2.6. Reprodução induzida

Durante o experimento, alguns animais também foram canulados utilizando uma sonda uretral nº10 que foi introduzida na papila genital para coleta de oócitos, com o objetivo de observar a posição de vesícula germinativa, através da biopsia ovariana. Os oócitos coletados por canulação foram colocados em placa de Petri com 5 ml de solução Serra por um minuto, em seguida a solução foi descartada e foi adicionado 5 ml de solução fixadora (formalina 40% e água destilada). Após cinco minutos, os oócitos foram colocados em um microscópio de luz (Olympus BX50) em aumento de 10x para observação e avaliação. Foi encontrada uma fêmea com 990 DAE, pesando 3,120kg. Após o término da coleta de gônadas, onde foi identificado o estágio avançado de maturação, este procedimento foi realizado novamente em animais que foram mantidos no tanque com 1.350 DAE, quando foram utilizadas para a indução hormonal mais três fêmeas pesando 5,795; 6,235 e 7,390 kg. Para a reprodução induzida, esses animais foram submetidos a indução hormonal como descrito por (Woynarovich e Horváth, 1983, Harvey e Carolsfeld, 1993), onde fêmeas receberam duas doses de extrato bruto de hipófise de carpa (EHC) que foi macerada e diluída em solução salina (0,6% NaCl), sendo a primeira de 0,5 mg/kg e a segunda 12 horas após a primeira na dosagem de 5,0 mg/kg de peso vivo. Para os machos, previamente separados do

lote de animais, foi utilizada a dosagem de 3,0 mg de EHC/kg aplicada em dose única juntamente com a aplicação da segunda dose nas fêmeas. A extrusão ocorreu com 230 horas grau a temperatura de 28 °C.

2.7. *Análise estatística*

Os dados gerais de crescimento, conversão alimentar, sobrevivência, histologia e reprodução induzida estão apresentados de forma descritiva. Dados comparativos entre os sexos dos animais (desempenho, índices e análise espermática), são demonstrados como média e desvio padrão. O desempenho e os índices foram submetidos ao teste de homocedasticidade de Levene e normalidade de Shapiro-Wilk. Os parâmetros analisados entre o sexo dos animais em cada período de cultivo foram submetidos ao teste T-student a 5% de significância. Já os parâmetros analisados entre os animais do mesmo sexo nos diferentes períodos de cultivo foram submetidos a ANOVA seguido de teste Tukey a 5% de significância. A análise espermática foi submetida ao teste T-student a 5% de significância. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software InfoStat, Córdoba, Argentina.

3. RESULTADOS

Os animais apresentaram crescimento em peso final, ganho em peso e comprimento durante todo o estudo (Tabela 2). Após o primeiro, segundo e terceiro ano os animais atingiram peso médio de 0,94 Kg (menor 0,50 e maior 1,42 kg), 3,78 Kg (menor 3,02 e maior 5,19 kg) e 5,66 Kg (menor 3,88 e maior 8,17 kg). A maior biomassa atingida foi aos 890 DAE (total de 14,1 kg/m³), sendo que ao final a biomassa foi de 5,6 kg/m³. Com relação do GPD, os maiores valores foram registrados entre 530 e 990 DAE. O ganho em comprimento foi variável ao longo das coletas. A conversão alimentar se manteve abaixo de 2 durante todo o estudo. Ao comparar machos e fêmeas após 590 DAE, esse crescimento fica evidente para peso e comprimento ao longo do experimento (Figura 2A e 2B) (P<0,05). Porém, quando comparamos machos e fêmeas de mesma idade, não foi verificada diferenças para o peso e comprimento (P>0,05).

Tabela 2. Dados descritivos (média \pm desvio padrão) de biomassa, crescimento e conversão alimentar avaliados de acordo com a fase de crescimento de *Colossoma macropomum* alimentados com ração comercial em sistema de recirculação de água.

Fase	ΔT^1	DAEi ²	DAEf ³	Biomassa (kg/m ³) ⁴	Ci ⁵	Cf ⁶	Pi ⁷	Pf ⁸	GP ⁹	GPD ¹⁰	GC ¹¹	CA ¹²
1	15	155	170	0,58	14,44 \pm 1,57	17,41 \pm 8,64	56,54 \pm 22,59	88,39 \pm 27,71	31,85	2,12	2,97	1,83
2	30	171	200	0,95	17,41 \pm 8,64	19,25 \pm 1,43	88,39 \pm 27,71	145,29 \pm 36,03	56,90	1,90	1,84	1,17
3	45	201	230	1,30	19,25 \pm 1,43	21,78 \pm 1,61	145,29 \pm 36,03	200,03 \pm 45,09	54,74	1,82	2,53	1,38
4	75	231	290	2,65	21,78 \pm 1,61	28,07 \pm 2,35	200,03 \pm 45,09	406,55 \pm 93,12	206,52	3,44	6,29	1,84
5	135	291	350	3,99	28,07 \pm 2,35	32,75 \pm 2,01	406,55 \pm 93,12	655,29 \pm 136,90	248,73	4,15	4,68	1,77
6	195	351	410	5,22	32,75 \pm 2,01	36,35 \pm 3,74	655,29 \pm 136,90	945,28 \pm 190,09	289,99	4,83	3,60	1,61
7	255	411	470	6,11	36,35 \pm 3,74	41,48 \pm 3,09	945,28 \pm 190,09	1210,81 \pm 269,38	265,54	4,43	5,13	1,92
8	315	471	530	7,51	41,48 \pm 3,09	43,78 \pm 2,54	1210,81 \pm 269,38	1599,40 \pm 317,72	388,58	6,48	2,30	1,80
9	375	531	590	9,19	43,78 \pm 2,54	48,08 \pm 5,12	1599,40 \pm 317,72	2155,99 \pm 398,89	556,59	9,28	4,30	1,82
10	435	591	650	10,84	48,08 \pm 5,12	49,75 \pm 2,53	2155,99 \pm 398,89	2570,75 \pm 465,70	414,76	6,91	1,67	1,94
11	495	651	710	12,61	49,75 \pm 2,53	52,57 \pm 2,94	2570,75 \pm 465,70	2958,77 \pm 499,40	388,01	6,47	2,82	1,80
12	555	711	800	14,15	52,57 \pm 2,94	56,84 \pm 2,70	2958,77 \pm 499,40	3782,99 \pm 661,56	824,22	9,16	4,27	1,54
13	645	801	890	14,17	56,84 \pm 2,70	59,37 \pm 3,66	3782,99 \pm 661,56	4656,71 \pm 935,51	873,73	9,71	2,53	1,88
14	735	891	946	13,00	59,37 \pm 3,66	60,88 \pm 3,39	4656,71 \pm 935,51	4981,83 \pm 1011,07	325,12	5,81	1,51	1,56
15	791	947	990	9,81	60,88 \pm 3,39	61,29 \pm 2,87	4981,83 \pm 1011,07	5373,55 \pm 1008,00	391,71	8,90	0,40	1,32
16	835	991	1080	5,67	61,29 \pm 2,87	63,15 \pm 2,91	5373,55 \pm 1008,00	5667,35 \pm 1046,00	293,80	3,26	1,87	1,26

¹ ΔT ; duração da fase em dias, ²DAEi; dia inicial após eclosão dentro da fase, ³DAEf; dia final após eclosão dentro da fase, ⁴Biomassa (kg/m³)

⁵Ci; comprimento médio inicial (cm), ⁶Cf; comprimento médio final (cm), ⁷Pi; peso inicial médio(g), ⁸Pf; peso final médio (g), ⁹GP; ganho de peso médio(g).

¹⁰GPD; ganho de peso diário(g/dia), ¹¹GC; ganho médio de comprimento(cm), ¹²CA; conversão alimentar.

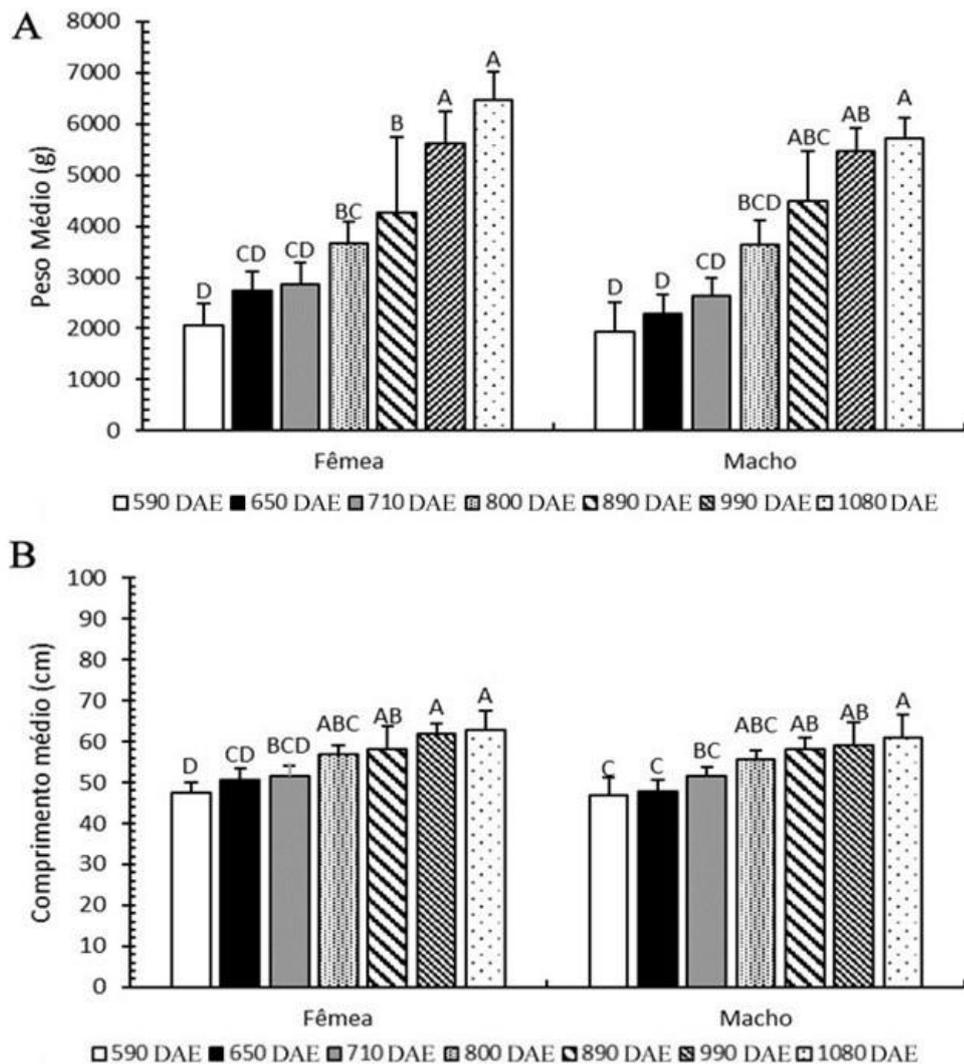


Figura 2. Peso (A) e comprimento (B) médio (média \pm desvio padrão) de *Colossoma macropomum* cultivados em recirculating aquaculture system (RAS) durante a maturação sexual. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as diferentes biometrias de cada sexo pela ANOVA seguido de teste de Tukey (5%). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os sexos dos animais e cada biometria pelo teste T-student (5%).

Na primeira coleta onde se identificou os machos, após 470 DAE (fig. 3A), ambos estavam imaturos (Tabela 3). Após 530 DAE foram registrados animais em repouso, mas com a presença das primeiras espermatogônias (fig. 3B). Porém, com 590 DAE dos três machos analisados, um estava em repouso e dois em maturação inicial (fig. 3C). Após 650 DAE dos três machos analisados dois estavam em maturação intermediária. A maturação avançada foi registrada após 710 DAE (fig. 3D). Cabe destacar aqui que após 890 e 946 DAE machos que liberaram sêmen por pressão abdominal foram separados para análise do sêmen.

Com relação as fêmeas, após 590 DAE (fig. 4A) das quatro fêmeas identificadas, duas estavam em repouso (Tabela 4). Após 650 DAE uma fêmea estava em repouso apresentado

organização de lamelas ovíferas e duas com predominância de ovócitos perinucleolares avançados (fig. 4B). Após 710 DAE dias, as seis fêmeas apresentavam maturação inicial (fig.4C). A maturação avançada foi registrada após 890 DAE nas duas fêmeas analisadas (fig. 4D).

Tabela 3. Características histológicas dos testículos de *Colossoma macropomum* durante o crescimento em diferentes estágios de maturação gonadal.

DAE¹	Estádio de maturação gonadal	Características histológicas dos testículos
470	Imaturo	Apenas espermatogônias primárias dispersas, não há formação de túbulos seminíferos.
530	Repouso	Espermatogônias primárias e secundárias com início de organização dos túbulos seminíferos.
590	Maturação inicial	Parede dos túbulos seminíferos formada por cistos de diferentes células espermatogênicas, com lúmenes contendo pequenas quantidades de espermatozoides.
650	Maturação intermediária	Túbulos seminíferos com maior quantidade de espermatozoides que a fase anterior.
710	Maturação avançada	Túbulos seminíferos e ducto espermático preenchidos com espermatozoides.

¹DAE; dias após eclosão.

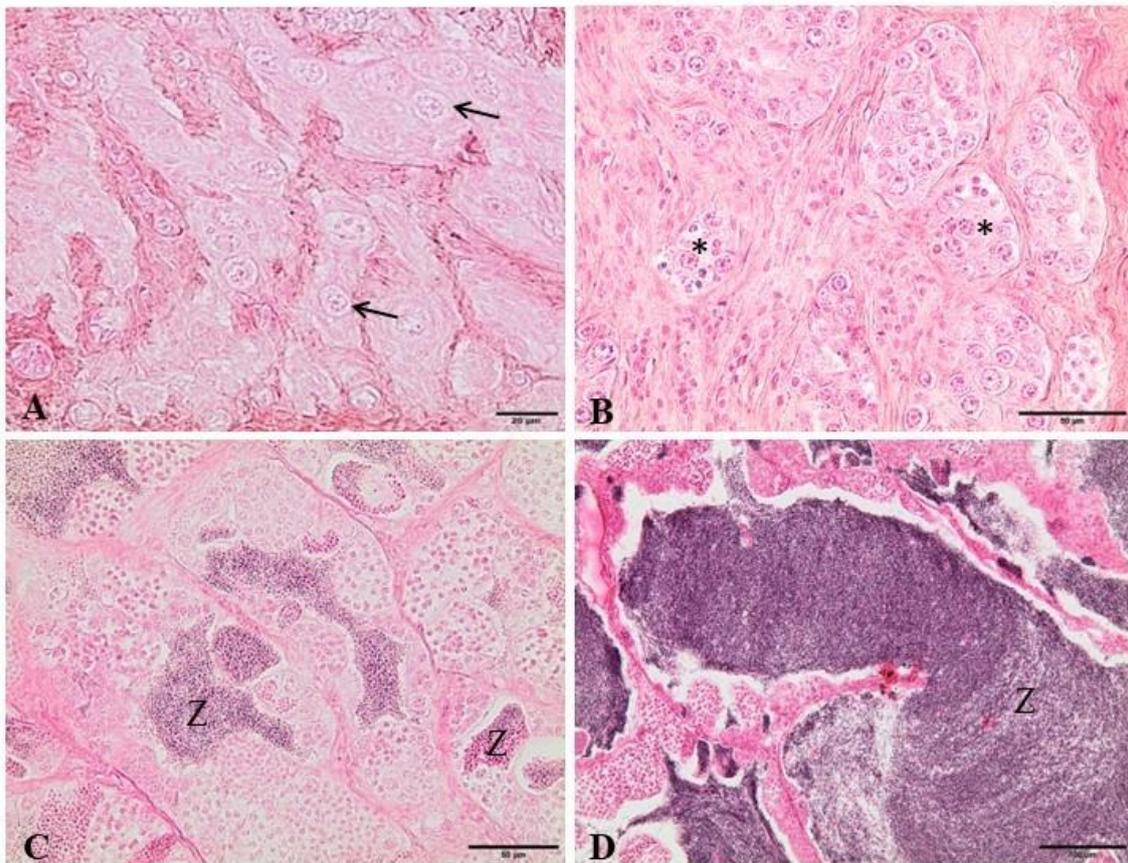


Figura. 3. Secções transversais de testículos de *C. macropomum* corados por HE: A= 470 DAE, estágio imaturo contendo espermatogônias (setas) distribuídas aleatoriamente; B= 530 DAE, repouso mostrando túbulos seminíferos contendo somente espermatogônias na parede lúmen fechado (*); C= 590 DAE, maturação inicial com túbulos seminíferos com diferentes células da linhagem espermatogênica na parede e lúmen com pequena quantidade de espermatozoides (z); D= 710 DAE, maturação avançada (maduro) com túbulos seminíferos repletos de espermatozoides (z).

Tabela 4. Características histológicas dos ovários de *Colossoma macropomum* durante o crescimento em diferentes estágios de maturação gonadal.

DAE¹	Estádio de maturação gonadal	Características histológicas dos ovários
590	Imaturo	Predominância de ninhos de células germinativas primordiais, ovogônias e raros oócitos perinucleolares iniciais.
650	Repouso	Organização de lamelas ovulíferas contendo oócitos perinucleolares iniciais e avançados.
710	Maturação inicial	Presença de oócitos pré-vitelogênicos com alvéolos corticais característicos.
890	Maturação avançada	Oócitos vitelogênicos repletos de glóbulos de vitelina acidófila e de células foliculares prismáticas e uma zona pelúcida delgada, além de oócitos em outras fases. Caracterizando assim, o desenvolvimento assíncrono.

¹DAE; dias após eclosão.

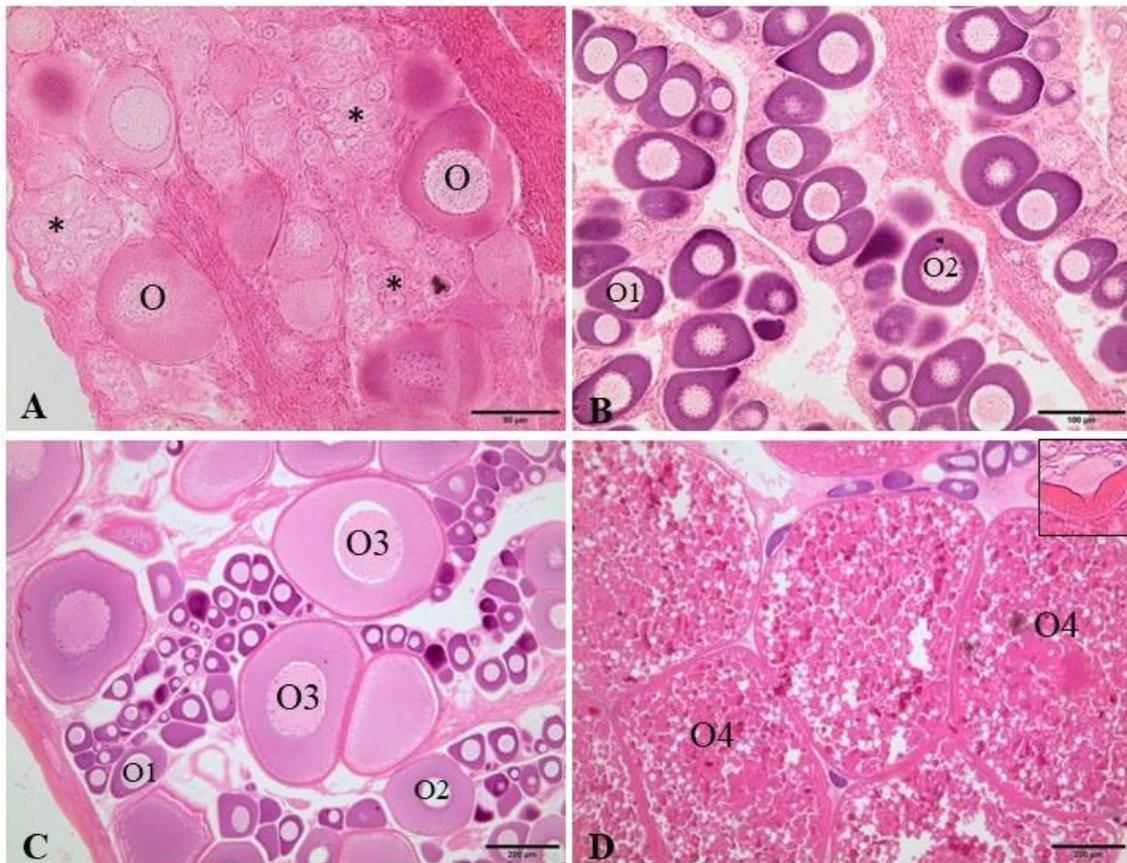


Figura. 4. Secções transversais de ovários de *C. macropomum* corados por HE: A= 590 DAE, estágio imaturo contendo ninhos de ovogônias (*) e alguns ovócitos (O) em formação distribuídos aleatoriamente; B= 650 DAE, repouso mostrando lamelas ovulíferas contendo ovócito perinucleolar inicial (O1) e perinucleolar avançado (O2); C= 710 DAE, maturação inicial contendo O1, O2 e ovócitos pré vitelogênicos (O3); D= 890 DAE, maturação avançada (maduro) com numerosos ovócitos vitelogênicos (O4), encarte = detalhe de micrópila.

O IGVS das fêmeas foi maior após 590, 650 e 990 DAE e menor após 890 DAE (Figura 5A) ($P < 0,05$). Para os machos o IGVS foi semelhante ao logo das coletas ($P > 0,05$). Ao comparar machos e fêmeas na mesma coleta, também não foi registrado diferenças no IGVS ($P > 0,05$).

Para o IHS, ao longo do crescimento, não foram registradas diferenças para machos e fêmeas (Figura 5B) ($P > 0,05$). Quando comparados machos e fêmeas na mesma coleta, após 710 DAE as fêmeas apresentaram maior IHS e após 800 DAE, os machos apresentaram o maior IHS ($P < 0,05$).

O IGS foi maior para as fêmeas após 1080 DAE ($P < 0,05$), enquanto os machos não apresentaram diferenças durante os dias de coleta ($P > 0,05$) (Figura 5C). Este fato ocorreu devido a que nem todos os peixes avaliados estavam em mesmo estágio de maturação

gonadal. Comparando os animais na mesma coleta, após 1080 DAE as fêmeas apresentaram maior IGS em relação aos machos ($P < 0,05$).

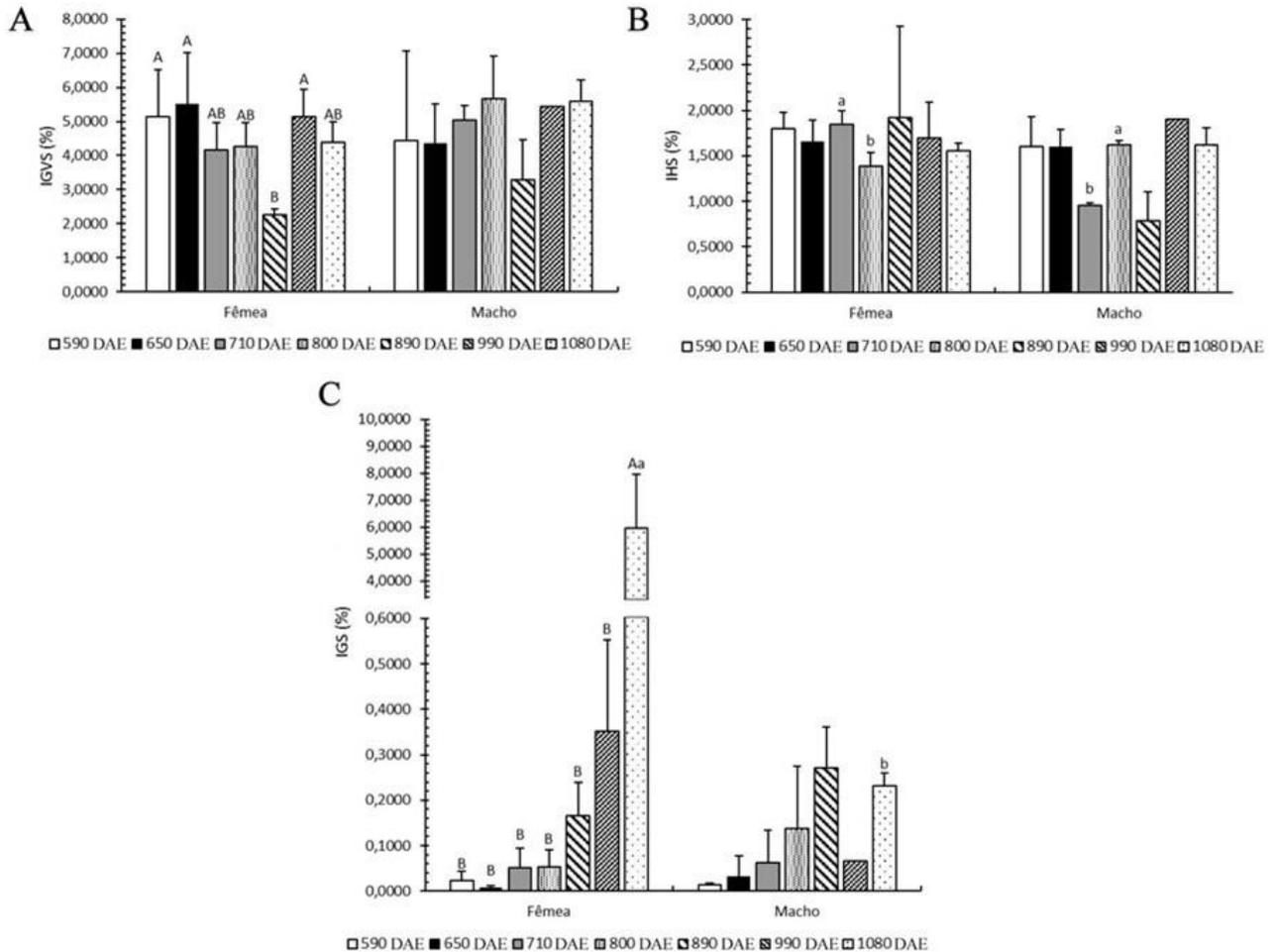


Figura 5. Índice de gordura viscerossomática (A), índice hepatossomático (B) e índice gonadosomático (C) (média \pm desvio padrão) de *Colossoma macropomum* cultivados em sistema recirculação de água (SRA) durante a maturação sexual. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as diferentes biometrias de cada sexo dos animais pela ANOVA seguido de teste de Tukey (5%). Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os sexos dos animais e cada biometria pelo teste T de student (5%).

A comparação da qualidade espermática dos machos após 890 e 990 DAE não mostrou diferenças entre as idades para os parâmetros avaliados (Tabela 5).

Tabela 5. Análise espermática realizada no CASA dos machos de *Colossoma macropomum* (biometria 13 e 14).

DAE	Peso animal (kg)	Volume de sêmen (ml)	Motilidade (%)	VCL ($\mu\text{m/s}$)	VSL ($\mu\text{m/s}$)	VAP ($\mu\text{m/s}$)
890 ¹	4,43 \pm 1,23	0,45 \pm 0,10	88,65 \pm 10,66	36,43 \pm 12,88	17,48 \pm 4,40	26,43 \pm 7,43
990 ²	4,87 \pm 1,08	0,43 \pm 0,12	85,36 \pm 10,28	30,13 \pm 3,35	15,66 \pm 3,07	22,80 \pm 1,99
<i>P-valor</i>	0,9943	0,197	0,5659	0,8434	0,8907	0,9579

VCL – Velocidade curvilinear ; VSL - Velocidade progressiva; VAP – Velocidade de trajeto. Os dados foram comparados pelo teste T de student (5%). ¹ 5 machos liberaram sêmen, mas só foi feita a leitura de 3 machos, devido a presença de sangue em 2 machos. ² 6 machos liberaram sêmen, mas só foi feita a leitura de 4 machos, devido a presença de sangue em dois machos.

Para a reprodução induzida foram utilizadas quatro fêmeas. A fêmea com 990 DAE teve resposta positiva com desova de 135 g de ovócitos e taxa de fertilização de 95%. Das outras três fêmeas, uma teve resposta positiva com desova de 650 g de ovos. Porém, por problema na incubação não foi possível determinar a taxa de fertilização. As outras duas fêmeas não apresentaram resposta positiva.

4. DISCUSSÃO

Esse é o primeiro estudo de primeira maturação de *C. macropomum* em condições totalmente controladas e demonstrou a adaptabilidade da espécie, assim como o sucesso no crescimento, primeira maturação, espermiacão e reprodução, fechando, assim, todo o ciclo. Este estudo abre novas perspectivas para a reprodução desta espécie em locais, onde as temperaturas possam ser fora do ideal para *C. macropomum*.

Os animais apresentaram crescimento durante todo o estudo, alcançando, após o primeiro, segundo e terceiro ano de vida, peso médio de 0,94 kg (menor 0,50 e maior 1,42 kg), 3,78 kg (menor 3,02 e maior 5,19 kg) e 5,66 kg (menor 3,88 e maior 8,17 kg), respectivamente. O crescimento em SRA para esta espécie durante a fase de engorda já foi relatado por Santos et al. (2021) que registraram que animais com peso médio de 34,8 g atingiram entre 0,72 a 1,12 kg em 173 dias de cultivo. Já, em sistema semi-intensivo, onde juvenis com peso médio de 160g foram estocados em tanque escavado com biomassa de 1,85 kg/m², alcançaram após 300 dias de cultivo peso final médio de 2,620 kg (Izel e Melo, 2004), enquanto em sistema semi-intensivo com aeração suplementar, Sousa et al. (2017) também verificaram bons resultados utilizando biomassa de 0,78 kg/m², onde juvenis com peso inicial de 42,7 \pm 16,3g atingiram peso final de 1949,0 \pm 239g após 356 dias de cultivo. Desta forma,

os resultados apresentados mostram que esta espécie se adapta bem a diferentes sistemas, e que o RAS surge como alternativa interessante, devido principalmente, a economia de água e a possibilidade de se criar essa espécie em regiões fora de sua zona de conforto, como também manter os animais em altas densidades. Contudo, esses resultados podem ser melhorados a partir de estudos de nutrição e manejos que sejam mais específicos para o cultivo de *C. macropomum* em SRA.

No sistema de SRA utilizado, a maior biomassa atingida foi aos 890 DAE (total de 14,1 kg/m³), sendo que ao final do experimento esta foi de 5,6 kg/m³. Esta biomassa foi bem superior quando comparada aos 0,10 kg/m² para manutenção de reprodutores desta espécie em viveiros escavados com baixa renovação (Pires et al., 2018). Esses resultados já evidenciam a possibilidade de manter reprodutores de *C. macropomum* em maiores densidades em SRA para futuros trabalhos. Poucos são os estudos sobre densidade de reprodutores em SRA. Anil et al. (2019) utilizaram RAS para manter reprodutores de peixe imperador (*Lethrinus lentjan*), porém com uma densidade de 12 animais com peso entre 0,7 e 1,2 kg em um tanque com capacidade de 10 ton.

Com relação do GPD, os maiores valores foram registrados entre 530 e 990 DAE variando de 6,4 a 9,7 g/dia. Em RAS, Santos et al. (2021) verificaram que o GPD varia de acordo com o tamanho dos animais, como no presente estudo. Além disso, os autores encontraram resultados semelhantes, onde peixes entre 300 g e peixes acima de 500 g apresentaram GPD entre 5,74 e 8,36 g/dia durante 60 dias de cultivo. Porém, López e Anzoátegui (2013) obtiveram GPD de 2,67 g/dia, para a mesma espécie com peso final médio de 818,0 g também em SRA, fato que pode ser atribuído a diferentes manejos entre os estudos.

A conversão alimentar se manteve abaixo de 2,0 durante todo o estudo. Em RAS, durante a engorda, animais com peso médio de 34,8 g até atingirem entre 0,72 e 1,12 kg após 173 dias de cultivo em diferentes densidades de estocagem, a CA variou de 0,79 a 1,76 (Santos et al., 2021). CA abaixo de 2,00, também foram registradas em outros sistemas de cultivo, como o encontrado por Brandão et al., (2004) criando essa espécie em tanque rede, por Gomes et al. (2006) em baixa densidade em tanque rede e por Santos et al. (2014) em viveiro escavado. Assim como para o desempenho, esses resultados confirmam a adaptação do *C. macropomum* a diferentes sistemas de cultivo, com baixa CA, o que é de extrema

relevância, já que a alimentação pode representar até 78% dos custos de produção (Freitas, 2019).

Ao comparar machos e fêmeas de mesma idade após 590 DAE, não foi verificado diferenças para o peso e comprimento. Almeida et al. (2016) também não encontraram diferenças entre machos e fêmeas de *C. macropomum* em várias coletas realizadas ao longo do tempo. Porém, os autores registram que as fêmeas apresentaram maior peso comparadas aos machos da mesma idade nas duas últimas coletas de seu estudo. Resultados semelhante ao do presente estudo, também foram verificados por Melillo-Filho et al. (2020) avaliando a primeira maturação de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) em condições controladas, onde não foi verificado diferença em peso e comprimento nos machos e fêmeas ao longo do estudo. Assim, esta relação de crescimento de machos e fêmeas, deve ser melhor avaliada em futuros estudos.

A maturação avançada nos machos foi registrada após 710 DAE, sendo que a primeira coleta de sêmen foi realizada após 890 DAE. Almeida et al. (2016) identificaram espermatogênese inicial nos machos de *C. macropomum* com 150 DAE em viveiros escavados, mas sem identificar a maturação final. Em outro estudo realizado na natureza, Villacorta-Correa e Saint-paul (1999) encontraram machos de *C. macropomum* maduros com comprimento médio 60,69 cm, tamanho maior ao dos animais que atingiram a maturidade sexual no presente estudo. Assim, o RAS se torna uma outra alternativa para formação de plantel de machos dessa espécie.

Após 710 DAE, fêmeas com 2,8 kg apresentaram maturação inicial e a maturação avançada foi registrada após 890 DAE em fêmeas com 4,2 kg. Em sistema de cultivo extensivo, fêmeas de *C. macropomum* com 360 DAE, atingiram peso médio de 3,0 kg, porém não chegaram no estágio de maturação inicial (Almeida et al. 2016). Desta forma, em fêmeas de *C. macropomum*, a oogênese completa parece não ocorrer em animais com menos de 3,0 kg de peso vivo. Para o *L. alexandri*, outra espécie nativa criada em condições de laboratório desde larva, contudo, existem diferenças entre as espécies. Fêmeas de *L. alexandri* atingiram a maturidade sexual quando criadas em condições de laboratório desde larvas com 783.05 ± 48.57 g de peso vivo (Melillo-Filho et al., 2020).

No SRA foi evidente que os machos de *C. macropomum* atingiram primeiro a maturidade sexual. Este fato é confirmado por Villacorta-Correa e Saint-Paul (1999) para *C. macropomum*, e foi registrado também para corvina (*Micropogonias furnieri*) (Silva Santos et

al., 2015), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) (Barzotto et al., 2016) e pacamã (*L. alexandri*) (Melillo-Filho et al., 2020).

O IGVS das fêmeas foi maior após 590, 650 e 990 DAE (períodos de repouso e regressão) e menor após 890 DAE (período de maturação avançada). Essa relação de variação do IGVS pode indicar relação com o estágio de maturidade sexual das fêmeas, como relatado por Barbieri et al. (2001) em fêmeas de dourado (*Salminus maxillosus*), e por Romagosa et al. (2003) em fêmeas de cachara (*P. fasciatum*).

O aumento nos valores de IHS nos períodos em que os animais apresentaram maturação sexual avançada, pode ser relacionada com o acúmulo de reservas hepáticas que são utilizadas para suprir as necessidades energéticas dos animais, como verificado por Villacorta-Correa e Saint-Paul (1999). Para o IHS, ao longo do crescimento, não foram registradas diferenças para machos e fêmeas. Quando comparados machos e fêmeas na mesma coleta, após 710 DAE as fêmeas apresentaram maior IHS e após 800 DAE, os machos apresentaram o maior IHS. Como os indivíduos analisados não se desenvolveram de forma sincrônica, machos e fêmeas apresentaram valores diferentes de IHS. Esses resultados diferem dos encontrados por Almeida et al. (2016), onde IHS diminuiu significativamente a medida que o IGS aumentava.

O IGS foi maior para as fêmeas após 1080 DAE, enquanto os machos não apresentaram diferenças durante os dias de coleta, fato esse, que pode ser devido a encontrar nas amostras machos em diferentes estádios de maturação. Os valores de IGS para machos foram semelhantes aos encontrados por Almeida et al. (2016) em seu estudo de primeira maturação. Comparando os animais na mesma coleta, após 1080 DAE as fêmeas apresentaram maior IGS em relação aos machos. A diferença pode ser explicada pelas características morfológicas das gônadas que ficam extremamente vascularizadas e repleta de oócitos vitelogênicos que são maiores e mais pesados que espermatozoides. Desta forma, necessitam de uma estrutura maior para serem armazenadas, e conseqüentemente IGS é maior nas fêmeas do que nos machos (DeVlaming et al., 1982; Taranger et al., 2010; Flores et al., 2019).

A qualidade espermática dos machos após 890 e 990 DAE não mostrou diferenças entre as idades para os parâmetros avaliados. Porém, comparando com estudo o feito por Pires et al. (2019), a qualidade espermática dos animais do presente estudo de primeira maturação foi inferior. Contudo, destacamos que no presente estudo, os animais eram menores e não

foram induzidos. A coleta de sêmen foi feita naturalmente durante a biometria. No estudo realizado por Pires et al. (2019) foram utilizados animais com 4 anos de idade e média de 6,4 kg de peso que foram induzidos com extrato hipofisário de carpa para estimular a espermiacão. Pinheiro et al. (2016) também analisaram qualidade espermática em machos de *C. macropomum* induzidos com extrato hipofisário, utilizando crioprotetor e diluente no congelamento do sêmen. Após o descongelamento os autores verificaram que a motilidade observada foi bem inferior ao do presente estudo, mostrando que o sêmen fresco possui qualidade superior ao sêmen criopreservado.

Pela primeira vez na literatura de grandes peixes migradores neotropicais de água doce, é realizado um estudo que avaliou todo o ciclo de vida dos animais culminado com o sucesso reprodutivo em SRA, onde duas fêmeas tiveram resposta positiva a indução hormonal, já na primeira maturação. Contudo, apesar do sucesso reprodutivo, os ovos fertilizados de *C. macropomum*, são mantidos em incubadores do tipo funil com fluxo contínuo de água (Woynárovich e Van Anrooy, 2019). Notamos problemas na incubação em RAS, necessitando de estudo específicos para esta etapa.

5. CONCLUSÕES

É possível formar um plantel de reprodutores de *C. macropomum*, criados em SRA desde a fase larval, com sucesso reprodutivo de machos e fêmeas. Não foi verificado diferença no crescimento de machos e fêmeas da mesma idade durante os 1080 dias de estudo. Os machos atingiram primeiro a maturidade sexual avançada (710 DAE) quando comparado as fêmeas (890 DAE).

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brazil - 402952/2021-9), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-Brazil - APQ-01531-21), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brazil). R.K. Luz recebeu bolsas de pesquisa do CNPq (CNPq No. 308547/2018-7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, F. L. 2013. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. Rev. Bras. Reprod. Anim. v.37, n.2, p.174-180.

- Almeida, F. L., Lopes, J. S., Crescencio, R., Izel, A. C. U., Chagas, E. C., Boijink, C. 2016. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. *Aquac*, v. 452, p. 224–232. Doi: [dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.10.031](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.10.031).
- Amoussou, N., Lecocq, T., Fourrier, C., Nivelles, R., Fleck, C., Fontaine, P., Pasquet, A., Thomas, M, 2022. A multi-trait evaluation framework to assess the consequences of polyculture in fish production: An application for pikeperch in recirculated aquaculture systems. *Aquac. Rep*, v. 27, p.101349. Doi: doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101349.
- Anil, M. K., Gomathi, P., Sugi, V. V., Raheem, P. K., Raju, B. Gop, A. P., Santhosh, B., Philipose, K. K., Gopakumar, G., Gopalakrishnan, A. 2019. Captive maturation, breeding and seed production of Pink ear emperor, *Lethrinus lentjan* (Lacepede, 1802) (Family: Lethrinidae) in recirculating aquaculture system (RAS). *Aquac*, v. 503, p. 207, 2016. Doi: doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.084.
- Barbieri, G., Salles, F. A., Cestarolli, M. A. 2001 Reproductive and nutritional dynamics of *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae) at Mogi Guaçu, river, state of São Paulo, Brazil. *Acta Sci*, v. 23, n. 2, p. 441- 444.
- Barzotto, E., Oliveira, M., Mateus, L. 2016. Reproductive biology of *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix and Agassiz, 1829) and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Eigenmann and Eigenmann, 1889), two species of fisheries importance in the Cuiabá River Basin, Brazil. *J. Appl. Ichthyol*, p. 1–8. Doi: doi.org/10.1111/jai.13162.
- Bazzoli, N. 2003. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. In: Godinho HP, Godinho AL (Org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco da Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, p.291-306.
- Brandão, F. R., Gomes, L. C., Chagas, E. C., Araújo, L. D. 2004. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. *Pesq. Agro. Bras*, v. 39, n. 4, p. 357-362. Doi: [dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000400009](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000400009).
- Chellappa, S., Cacho, M. S. R. F., Huntingford, F. A., Beveridge, M. C. M. 1996. Observations on induced breeding of the Amazonian fish tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) using CPE and HCG treatments. *Aquac. Res*, v. 27, 91-94. Doi: [dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.1996.tb00971.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1996.tb00971.x).

- Dalsgaard, J., Lund, I., Thorarinsdottir, R., Drengstig, A., Arvonen, K., Pedersen, P. B., 2013. Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives. *Aquac. Eng.* v. 53, p. 2–13. Doi:doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.008.
- DeVlaming, V., Grossman, G., Chapman, F., 1982. On the use of the gonosomatic index. *Comp. Biochem. Phys.*, v. 73, p. 31–39. Doi: dx.doi.org/10.1016/0300-9629(82)90088-3.
- Farias Lima, J., Montagner, D., Duarte, S. S., Yoshioka, E. T. O., Dias, M. K. R., Tavares-Dias, M. 2019. Recirculating system using biological aerated filters on tambaqui fingerling farming. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v. 54, e00294. Doi: doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2019.V54.00294.
- Flores, A., Wiff, R., Ganas, K., Marshall, C.T., 2019. Accuracy of gonadosomatic index in maturity classification and estimation of maturity ogive. *Fish. Res.*, v. 210, p. 50-62. Doi: dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2018.10.009.
- Freitas, S. R. 2019. Análise da relação custo/volume/lucro na produção de tilápias em tanques-rede. Artigo acadêmico apresentado à Faculdade de Ciências Contábeis da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Contábeis.
- Gomes, L. C., Chagas, E. C., Martins-Junior, H., Roubach, R., Ono, E. A., Lourenço, J. N. P. 2006. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. *Aquac.*, v. 253, p. 374–384. Doi: doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.020.
- Gonçalves Júnior, L. P., Costa, D. C., Takata, R., Luz, R. K. 2022. Effect of temperature on food intake and digestion of Artemia in *Lophiosilurus alexandri* larvae. *J. Appl. Aquac.*, v. 36, p. 57-74. Doi: doi.org/10.1080/10454438.2022.2115330.
- Goulding, M. e Carvalho, M. L. 1982. Life history and management of the Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important amazonian food fish. *Rev. Bras. Zool.*, v.1, p. 107-133. Doi: doi.org/10.1590/S0101-81751982000200001.
- Harvey, B. J., Carolsfeld, J. 1993. Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa: International Development Research Centre, 144p.

- IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2022; Rio de Janeiro: IBGE, 2023 Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>>.
- Lekang, O. I. Aquaculture Engineering. 2nd ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2013. 432p.
- Li, W., Xiong, Y., Wang, Z., Zhang, Q., Shen, X., Liu, Q., Yan, H., Gao, R., Liu, Y., Pang, H., Wang, X. 2023. Effects of different photoperiod conditions on survival, growth, and gonadal development of *Takifugu rubripes* adults. *Aquac.*, v.564, 739048. Doi: doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739048.
- López, P., Anzoátegui, D. 2013. Engorde de la cachama (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816) cultivada en un sistema de recirculación de agua. *Zoo. Trop.*, v. 31, n.4, p. 271-277. ISSN 0798-7269
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J., 2010. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 165, p. 367–389. Doi: doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022.
- Melillo-Filho, R., Bazzoli, N., Souza e Silva, W., Costa, D. C., Boaventura, T. P., Julio, G. S. C., Luz, R. K. 2020. Rearing and maturation of *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876) in controlled conditions: First reports and future perspective. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 214, p. 106311. Doi: doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106311.
- Pinheiro, J. P. S., Leite-Castro, L. V., Oliveira, F. C. E., Linhares, F. R. A., Lopes, J. T., Salmito-Vanderley, C. S. B. 2016. Qualidade do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criopreservado em diferentes concentrações de gema de ovo. *Ciênc. Anim. Bras.*, v. 17, n.2, p. 267-273. Doi: doi.org/10.1590/1089-6891v17i22.5386.
- Pires, L. B., Filho, R. A. C. C., Sanches, E. A., Romagosa, E., da Silva T. G., Rech, S., Streit, D. P., Povh, J. A. 2018. *Colossoma macropomum* females can reproduce more than once in the same reproductive period, *Anim. Reprod. Sci.*, v. 196, p. 138-142. Doi: doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.07.006.
- Pires, L. B., Sanches, E. A., Romagosa, E., Filho, R. A. C. C., Nass, R. A. R., Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A. 2019. Sperm quality of *Colossoma macropomum* after roomtemperature and cold storage. *J. Appl. Ichthyol.*, v.35, p.747–753. Doi: doi.org/10.1111/jai.13864.

- Quagio-Grassiotto, I., Wildner, D. D., Ishiba, R. 2013. Gametogênese em peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.37, n.2, p.181-191.
- Rebouças, P. M., Maciel, R. L., Costa, B. G. B., Galvão, J. A. S., Barbosa Filho, J. A. D. 2014. Análise do bem-estar dos reprodutores de *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) através da relação peso-comprimento, fator de condição e produção de alevinos. *Biosci. J.*, v.30, n.5, p.873-881.
- Romagosa, E., Paiva, P.D., Andrade-Talmelli, E.F., Godinho, H.M., 2003. Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae), mantidas em cativeiro. *Bol. Inst. Pesca.* 29, 151-159.
- Santos, B. L. T., Andrade, J. E., Sousa, R. G. C. 2014. Densidade de estocagem utilizada no desenvolvimento do tambaqui em fase de pré-engorda. *Sci. Amazon*, v. 3, n.3, p.41-50. ISSN:2238.1910.
- Santos, F. A. C., Boaventura, T. P., Júlio, G. S. C., Cortezzi, P. P., Figueiredo, L. G., Favero, G. C., Palheta, G. D. A., Correio de Melo, N. F. A., Luz, R. K. 2021. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): Importance of stocking density and classification. *Aquac*, 534, 736274. Doi:doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736274.
- Schulz, W. R., França, L.R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R.H., Miura, T., 2010. Spermatogenesis in fish. *Gen. Comp. Endocrinol*, v.165, p. 390–411. Doi: doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013.
- Sevignani, D., Buzzacaro, E., Fortuna, N. B. 2020. Monitoring the time-grade required for extrusion of oocytes reproductive from *Colossoma macropomum*. *Sci. Elec. Arch*, vol. 13, n.6. Doi: doi.org/10.36560/1362020946.
- Shao, T., Chen, X., Zhai, D., Wang, T., Long, X., Liu, Z. 2019. Evaluation of the effects of different stocking densities on growth and stress responses of juvenile hybrid grouper ♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus* in recirculating aquaculture systems. *J. Fish Biol*, v. 95, p. 1022–1029. Doi: doi.org/10.1111/jfb.14093.
- Silva Santos, R., Silva, J. P. C., Costa, M. R., Araújo, F.G. 2015. O tamanho de primeira maturação como parâmetro para estabelecimento de tamanho mínimo de captura para corvina no Sudeste do Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, v. 41, p. 507-518.

- Sousa, R. G. C., Rocha, M. M., Pontuschka, R. B., Barbosa, H. T. R. 2017. Effects of mechanical aeration on tambaqui farming (*Colossoma macropomum*) in excavated tanks. *Acta. Fish. Aquat. Res.*, v. 5, n.3, p. 122-128. Doi: doi.org/10.2312/ActaFish.2017.5.3.122-128.
- Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F.A., Dufour, S., Karlsen, O., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T., 2010. Control of puberty in farmed fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v. 165, p. 483–515. Doi: doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.004.
- Verstegen, J., Iguer-Ouada, M., Onclin, K. 2002. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, v.57, p.149-179.
- Villacorta-Correa, M. A., Saint-Paul, U. 1999. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in central Amazon, Brazil. *Ver. Brasil. Biol.*, v.59, p. 637–652.
- Wilson-Leedy, J. G. e Ingermann, R. L. 2007. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, v. 67, p. 661–672. Doi: doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003.
- Woynarovich, E., e Horváth, L. 1983. The artificial propagation of warmwater finfishes – A manual for extension (Portuguese). Brasília, Brazil: FAO/CODEVASF/CNPq.
- Woynárovich, A., Van Anrooy, R. 2019. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 624. FAO, p. 1-121.

CAPÍTULO 3 – Artigo 2

Existem diferenças na hematologia e bioquímica sanguínea de machos e fêmeas de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) durante a maturação sexual em condições controladas?

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar a hematologia e bioquímica sanguínea de machos e fêmeas de *Colossoma macropomum* em condições controladas, durante o processo de maturação sexual. Todos os animais foram mantidos sobre os mesmos manejos até 1080 dias após a eclosão (DAE). Fêmeas com 590, 650, 710 e 890 DAE apresentaram menores porcentagens de hematócrito comparado a 1080 DAE ($P < 0,05$). Para a proteína plasmática, fêmeas com 590, 650, 710 e 800 DAE apresentaram as menores concentrações. As menores concentrações de hemoglobina foram registradas em fêmeas de 710, 800 e 990 DAE, enquanto a maior foi com 1080 DAE ($P < 0,05$). Fêmeas com 590 e 710 DAE, apresentaram menores quantidades de leucócitos, enquanto os maiores foram com 800, 990 e 1080 DAE ($P < 0,05$). Machos apresentaram as menores quantidades de leucócitos com 590 DAE e maiores com 800, 990 e 1080 DAE ($P < 0,05$). Fêmeas apresentaram diferença na quantidade de eritrócitos entre as idades. Machos com 890 e 990 DAE, apresentaram maiores quantidades de eritrócitos na comparação com as fêmeas da mesma coleta ($P < 0,05$). Foi observada maior glicose em fêmeas com 990 DAE e machos com 990 e 1080 DAE ($P < 0,05$). Os triglicerídeos apresentaram diferenças na comparação entre machos e fêmeas, em animais com 800 DAE, sendo maior nos machos ($P < 0,05$). Entre as fêmeas, animais com 890, 990 e 1080 DAE apresentaram concentrações maiores de triglicerídeos ($P < 0,05$). Nos machos os maiores valores foram registrados com 800 e 890 DAE ($P < 0,05$). Na contagem de eritrócitos, hematócrito, proteína plasmática e hemoglobina não houve diferença para os machos dentro das diferentes idades ($P > 0,05$). Também não houve diferença nos valores de hematócrito, proteína plasmática, hemoglobina, leucócitos, glicose e colesterol entre machos e fêmeas de mesma idade ($P > 0,05$). Dessa forma, concluímos que fêmeas durante o crescimento, acompanhado da maturação sexual, apresentaram mais variações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos, do que machos em diferentes idades e quando comparamos machos e fêmeas de mesma idade.

Palavras-chave: hematologia; bioquímica sanguínea; tambaqui; reprodução.

1. INTRODUÇÃO

Compreender as diversas alterações fisiológicas que ocorrem durante o ciclo de vida dos animais, especialmente em fases como a maturação sexual de machos e fêmeas, é importante para a formação de plantel e seleção de reprodutores (Santos et al., 2009).

As análises hematológicas e bioquímicas são consideradas de suma importância na realização de estudos de organismos aquáticos (Ranzani-Paiva et al., 2013). Através destas análises, é possível estabelecer parâmetros e padrões para componentes do sangue total, plasma ou soro, gerando resultados sobre níveis de glicose e proteína, perfil lipídico, metabólitos e hormônios, atividades enzimáticas, entre outros (Witeska et al., 2022). Assim, é possível diagnosticar níveis de estresse, anemia ou até mesmo níveis hormonais em períodos reprodutivos (Tanuja et al., 2017; Ahmed et al., 2020; Melillo-Filho et al., 2021; Bojarski et al., 2023; Gonçalves Junior et al., 2023). Porém, esses resultados são difíceis de serem padronizados, pois diversos fatores como ambiente, agente infecciosos, deficiência nutricional, idade e particularidade de cada espécie interferem diretamente nestes resultados, dificultando a padronização para cada espécie e sua faixa etária (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Clauss et al., 2008; Fazio, 2019).

Apesar de estudos de análises hematológicas e bioquímicas terem sido realizados em tambaqui *Colossoma macropomum* (Soberon et al., 2014; Reis e Almeida, 2018; Barroso et al., 2020; Santos et al., 2021; Guilherme et al., 2022), existem poucos dados comparando os valores destes componentes sanguíneos entre machos e fêmeas de mesma idade e durante o seu desenvolvimento.

Destaque na produção aquícola brasileira, o *C. macropomum*, é atualmente a espécie nativa mais produzida em cativeiro no país (IBGE, 2023). Nativo da bacia Amazônica, pode atingir grandes tamanhos e superar os 25 kg (Woynárovich e Van Anrooy, 2019), sendo bastante apreciado para consumo humano pela qualidade da carne e na pesca esportiva por ter um comportamento agressivo quando é capturado (Saint-Paul, 2017). Tolerante a altas temperaturas, o *C. macropomum* é principalmente cultivado na região norte e nordeste do Brasil, onde a espécie tem bom desempenho zootécnico devido as características climáticas (Baldisserotto e Gomes, 2010). Porém, já existem estudos com resultados positivos demonstrando que é possível cultivar a espécie em outras regiões do país, utilizando sistema de recirculação de água (Santos et al., 2021a; Santos et al., 2021b; Souza e Silva et al., 2021). De acordo com Almeida et al., (2016) machos iniciam a maturação sexual primeiro que as

fêmeas, porém ainda não se sabe se existem diferenças nos padrões hematológicos e bioquímicos durante esse processo.

Dessa forma, o objetivo deste estudo é comparar a hematologia e bioquímica sanguínea de machos e fêmeas de *C. macropomum* em condições controladas, durante o processo de maturação sexual.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Aquicultura (LAQUA) da Universidade Federal de Minas Gerais, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (Protocolo 80/2021, Belo Horizonte, Brasil).

2.1. Fase de crescimento e primeira maturação

Foram utilizados 150 juvenis de *C. macropomum* com peso médio de $200,03 \pm 45,09$ g e comprimento médio de $21,78 \pm 1,61$ cm, com 231 dias pós a eclosão (DAE). Os animais foram transferidos para um tanque de 23 m^3 equipado com sistema de recirculação de água e controle de temperatura. Nesse tanque a temperatura foi mantida em $27,5 \pm 0,5$ °C, oxigênio dissolvido acima de 4 mg L^{-1} , amônia total abaixo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e pH entre 6,5 e 7,8. De 231 a 590 DAE os animais foram alimentados com dieta comercial contendo 32% PB, 7% de extrato etéreo, 5% de fibra e pellets de 4-6 mm de diâmetro, duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 hrs). A partir de 591 DAE até o final do estudo (1080 DAE), a alimentação dos animais permaneceu na mesma frequência, porém com pellets de 6-8 mm de diâmetro e de mesma composição a descrita anteriormente.

A partir de 591 DAE, quando foi possível identificar machos e fêmeas pela primeira vez por análises macroscópicas e confirmação por análises histológicas das gônadas, foram realizadas sete biometrias (Tabela 1). Foram escolhidos animais aleatoriamente para as coletas de sangue. Nesse momento, os animais foram pesados em uma balança digital semi-analítica

Marte® AD5002.

Tabela 1. Coleta sanguínea de *Colossoma macropomum* durante o estudo.

Coletas	Duração (DAE¹)	N amostral	N Machos	Peso machos (g)	N Fêmeas	Peso fêmeas (g)	Indeterminados
1	591 a 650	10	3	1935,0±589,42	5	2064,2±412,02	2
2	651 a 710	10	3	2285,0±369,96	5	2747±376,07	2
3	711 a 800	10	2	2647,5±392,44	6	2868,3±416,96	2
4	801 a 890	10	5	3646,0±468,43	5	3676,0±406,11	0
5	891 a 946	10	7	4498,5±981,43	2	4270,0±1484,9	1
6	947 a 990	7	2	5298,0±103,23	5	5606,8±630,03	0
7	991 a 1080	7	2	4734,0±1787,5	5	6464,2±545,4	0

¹DAE; dias após eclosão.

2.2. Análises hematológicas e bioquímicas

Amostras de sangue foram coletadas dos animais a partir de 591 DAE, através de punção venosa caudal (Ranzani-Paiva et al., 2013) com N amostral como apresentado na Tabela 1. Foi realizada coleta de 1,0 mL de sangue em seringas heparinizadas. Este sangue foi utilizado para avaliação do hematócrito (%) por meio de tubos capilares preenchidos com até dois terços de sangue previamente homogeneizado. Os tubos capilares foram centrifugados por 10 min a $10.867 \times g$ (Micro SPIN 1000) e então observados em um micro hematócrito usando uma escala apropriada. A proteína plasmática ($g\ dL^{-1}$) foi medida usando um refratômetro portátil (RHC 200-ATC, Huake Instrument Co. Ltd.; <https://instrumentchina.com>) enquanto a concentração de hemoglobina ($g\ dL^{-1}$) foi determinada pela reação de cianometahemoglobina usando um kit comercial (referência no. K023-1 QUIBASA Química Básica Ltda. Bioclin <https://bioclin.com>). Heparina sódica (HEPAMAX-S[®] Cotia, São Paulo, Brasil) foi adicionada a $10\% \mu L\ mL^{-1}$ de sangue restante. As alíquotas de sangue total heparinizadas foram centrifugadas a $1165 \times g$ por 10 min (Centrifuge Spinlab SL-5 AM), para separação de plasma e determinação de glicose ($mg\ dL^{-1}$) pelo teste de glicose oxidase (GOD Trinder) (referência nº K082-2); triglicerídeos monorreagentes ($mg\ dL^{-1}$) por reação de Trinder (referência nº K117); e colesterol ($mg\ dL^{-1}$) pelo método enzimático Trinder utilizando um kit comercial (referência nº K083-3). Todos os testes utilizaram kits Bioclin (<https://bioclin.com> QUIBASA Química Básica Ltda, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) e todas as análises foram lidas em um espectrofotômetro (Biocrom Libra S22-<https://analiticaweb.com.br>).

As contagens de eritrócitos e leucócitos foram realizadas adicionando 10 μL de sangue total a 2mL de formol citrato. Em seguida foi preenchido um lado de uma câmara de Neubauer coberta com lamínula e a amostra diluída. Para a contagem de eritrócitos, cinco quadrados do retículo central foram contados sob uma objetiva de 40 \times e o resultado dividido por 10.000 para obter o número de eritrócitos μL^{-1} de sangue. Para a contagem de leucócitos, quatro quadrados laterais foram contados sob uma objetiva de 40 \times , e o resultado dividido por 1.000 para obter o número de leucócitos μL^{-1} de sangue.

2.3 Sexagem por análise macroscópica e histológica

Após a coleta de sangue, os animais foram sacrificados e realizada coleta das gônadas para a identificação macroscópica e confirmação por histologia do sexo dos animais. As gônadas foram retiradas e amostras foram fixadas em solução de Bouin por 12 horas e transferidas para álcool 70% até processamento histológico de rotina com inclusão de parafina

através de desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanização em xilol e coloração com Hematoxilina-Eosina. A microtomia foi realizada com espessura de 5-7 μ m sob microscópio óptico. A análise das lâminas histológicas foi realizada usando um estereomicroscópio e um microscópio de luz (Olympus BX50 acoplado a uma câmera Olympus SC-30.) As seguintes medições foram feitas no software Olympus CELL.

2.4. Análise estatística

Dados comparativos entre os sexos dos animais na hematologia e bioquímica sanguínea, são demonstrados como média e desvio padrão (DP). Os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade de Levene e normalidade de Shapiro-Wilk. Os parâmetros analisados entre o sexo dos animais em cada períodos de cultivo, e os dados hormonais de FSH e LH foram submetidos ao teste T-student a 5% de significância. Já, os parâmetros analisados entre os animais do mesmo sexo nos diferentes períodos de cultivo foram submetidos a ANOVA seguido de teste Tukey a 5% de significância. Todas as análises estatísticas foram realizadas no InfoStat, Córdoba, Argentina.

3. RESULTADOS

Na figura 1 são apresentados exemplos da identificação de machos e fêmeas realizadas durante o estudo. Na figura 1A e 1B está representado testículos de um macho imaturo com 470 DAE. Na figura 1C e 1D pode-se observar um par de testículos de um macho com 710 DAE em maturação avançada. Foram representadas nas figuras 1E e 1F fêmeas com 710 DAE em estágio inicial de maturação e maturação avançada fêmeas com 1080 DAE (figura 1G e 1H).

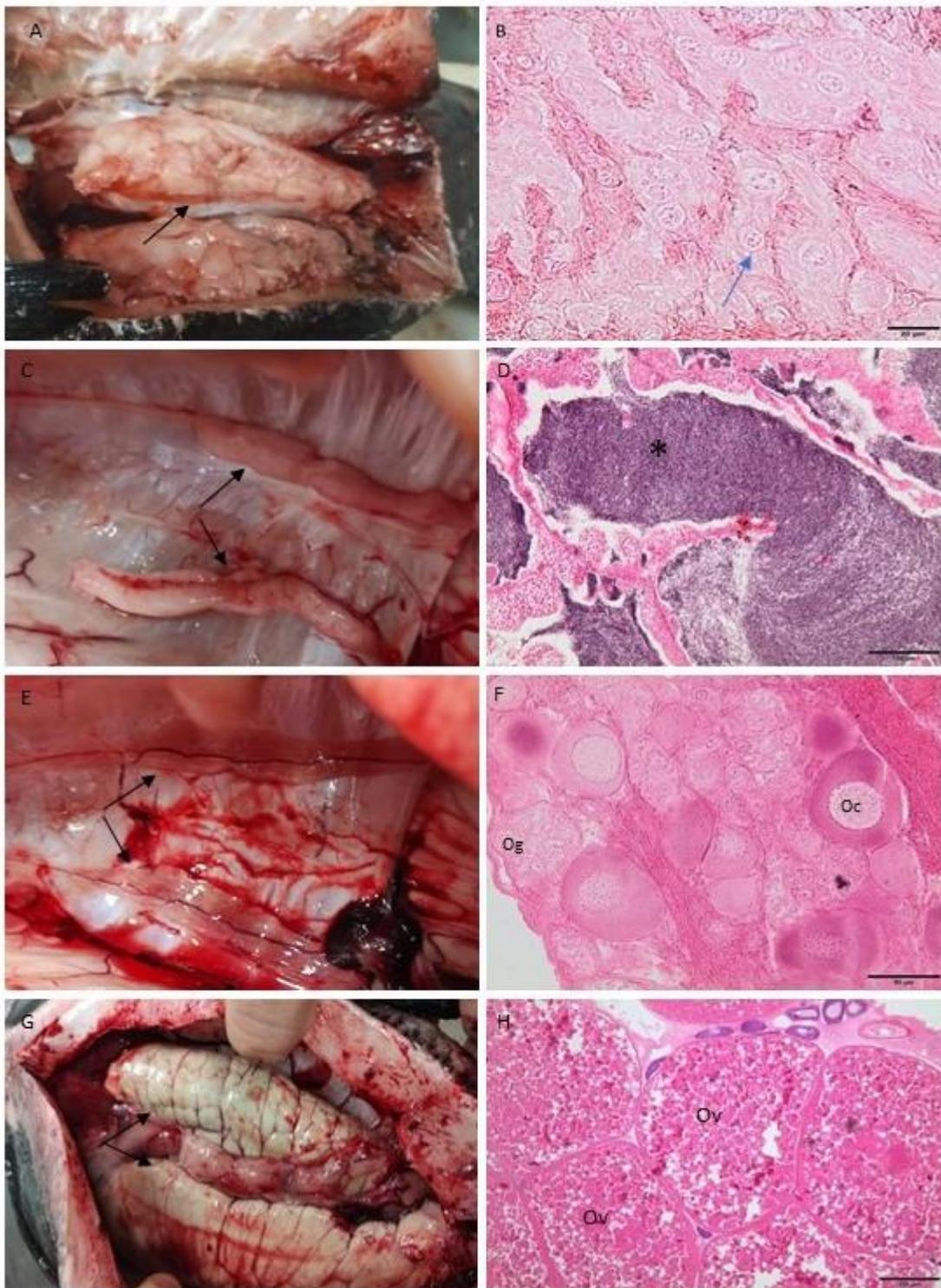


Figura 1. Setas pretas indicam a localização das gônadas de machos e fêmeas (A, C, F, G); seta azul indica presença de espermatogônias no testículo de macho imaturo (B); * indica túbulos seminíferos repletos de espermatozoides no testículo do macho em maturação avançada (D); na figura F é possível observar a presença de oócitos em formação inicial (Oc) e ninhos de ovogônias (Og) em fêmea, e na figura H, a presença de oóvitos vitelogênicos no ovário de uma fêmea em maturação avançada.

Fêmeas com 590, 650, 710 e 890 DAE apresentaram menores porcentagens de hematócrito em relação a fêmeas com 1080 DAE (Figura 2 A) ($P < 0,05$). Para os machos não

foi registrada diferenças entre as idades ($P > 0,05$). Ao comparar machos e fêmeas de mesma idade também não foi verificada diferença entre os sexos nas diferentes idades ($P > 0,05$).

Para a proteína plasmática, fêmeas com 590, 650 e 800 DAE apresentaram as menores concentrações, sendo as maiores para fêmeas com 1080 DAE (Figura 2 B). Para os machos não foi verificada diferenças entre as coletas ($P > 0,05$). Entre os machos e fêmeas de mesma idade também não houve diferença nas idades amostradas ($P > 0,05$).

As menores concentrações de hemoglobina foram registradas em fêmeas de 710, 800 e 990 DAE, enquanto a maior concentração foi com 1080 DAE (Figura 2 C) ($P < 0,05$). Não foi verificada diferença nas concentrações de hemoglobina entre os machos de diferentes idades e entre machos e fêmeas na mesma coleta ($P > 0,05$).

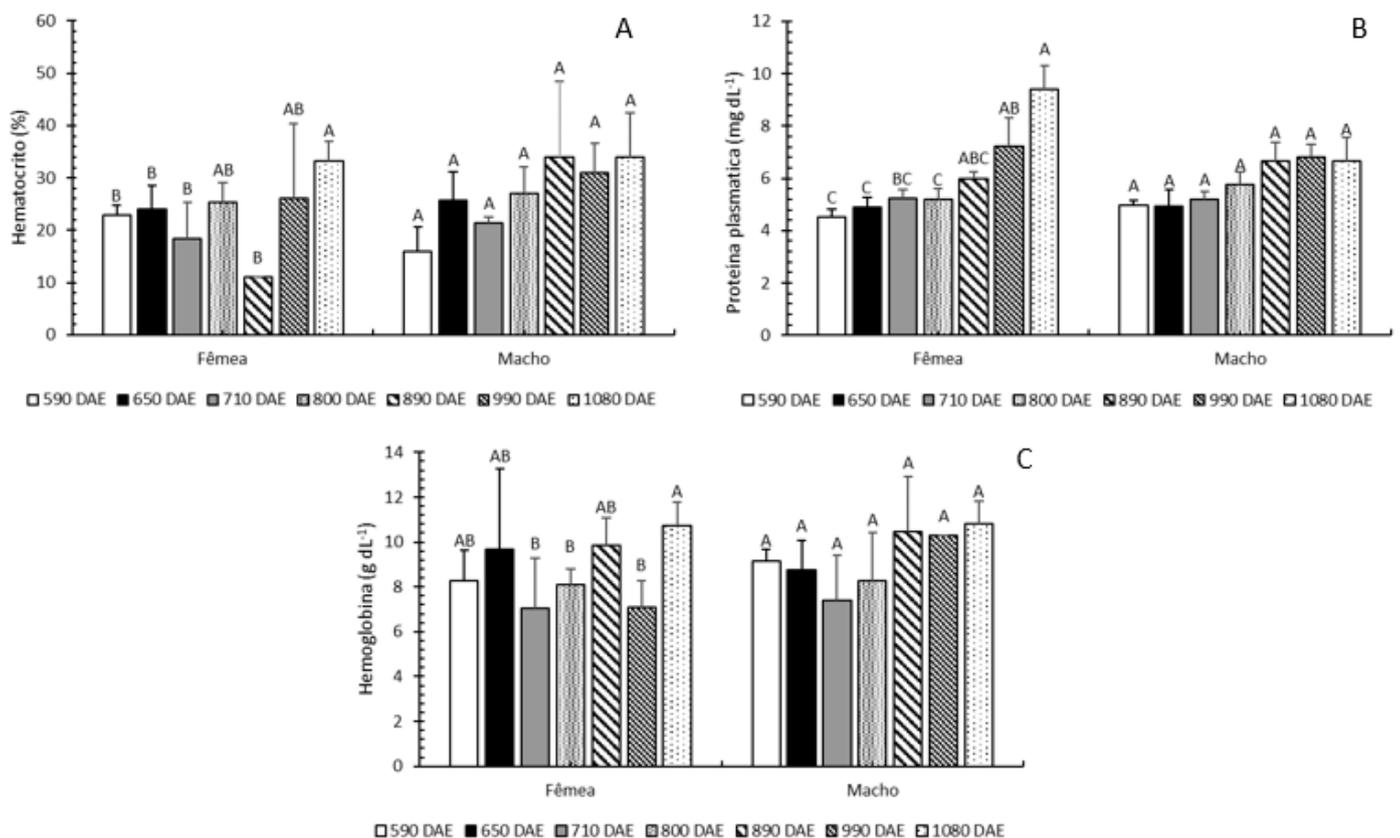


Figura 2. Valores médios (\pm erro padrão) de hematócrito (A), proteína plasmática (B) e hemoglobina (C) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$).

Houve diferença na quantidade de leucócitos nas fêmeas ao longo do tempo (Figura 3 A). Fêmeas com 590 e 710 DAE, apresentaram os menores valores, enquanto os maiores

foram apresentados por fêmeas com 800, 990 e 1080 DAE ($P < 0,05$). Machos também apresentaram diferença entre as coletas (Figura 3 A), onde animais com 590 DAE apresentaram as menores quantidades de leucócitos, e com 800, 990 e 1080 DAE apresentaram maiores quantidades ($P < 0,05$). Na comparação entre fêmeas e machos nas coletas, não houve diferença ($P > 0,05$).

Na contagem de eritrócitos (Figura 3 B), não houve diferença para os machos dentro das diferentes idades avaliadas ($P > 0,05$). Nas fêmeas, os animais com 890 DAE apresentaram menores quantidades de eritrócitos e com 1080 DAE apresentaram maior quantidade ($P < 0,05$). Houve diferença também entre machos e fêmeas da mesma idade. Machos com 890 e 990 DAE, apresentaram maiores quantidades de eritrócitos na comparação com as fêmeas da mesma coleta ($P < 0,05$).

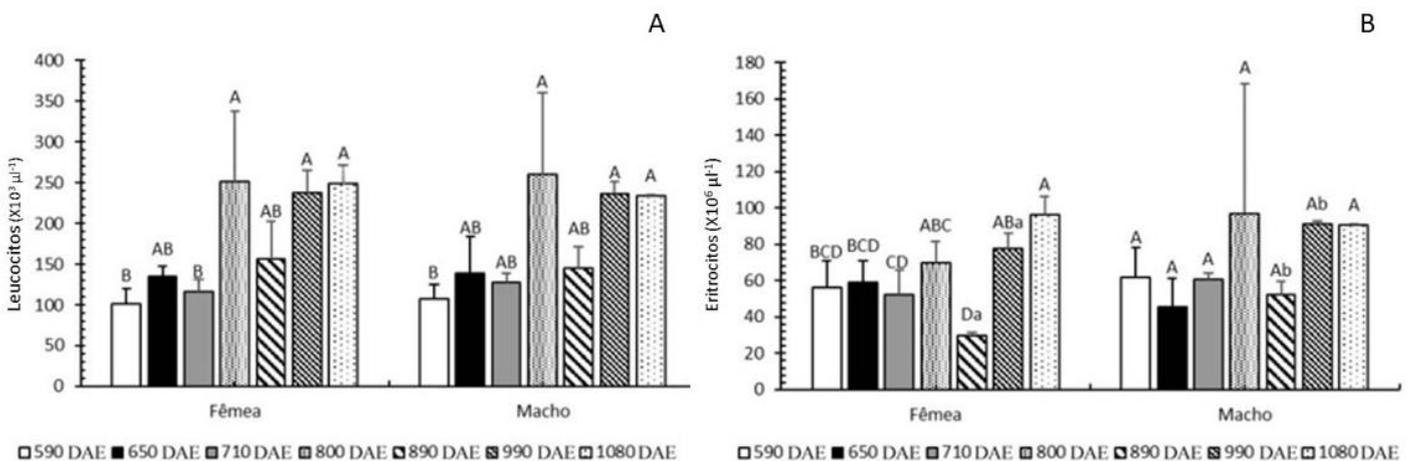


Figura 3. Valores médios (\pm erro padrão) de leucócitos (A) e eritrócitos (B) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$).

Para a glicose (Figura 4 A), não foi verificada diferença na comparação entre machos e fêmeas de mesma idade ($P > 0,05$). Porém, fêmeas com 990 DAE apresentaram maiores concentrações de glicose na comparação com outras idades ($P < 0,05$). Nos machos, animais com 590, 990 e 1080 DAE apresentaram maiores concentrações de glicose ($P < 0,05$).

Também não houve diferença nos valores de colesterol (Figura 4 B) entre machos e fêmeas de mesma idade ($P > 0,05$). Para as fêmeas, foi registrada a menor concentração com 590 DAE e a maior com 1080 DAE. Resultados semelhantes foram encontrados nos machos,

onde os animais mais novos apresentaram a menor concentração de colesterol e animais com 1080 DAE apresentaram as maiores concentrações ($P < 0,05$).

Os triglicerídeos apresentaram diferenças na comparação entre machos e fêmeas, onde com 800 DAE, nos machos foi maior ($P < 0,05$). Entre as fêmeas, animais com 890, 990 e 1080 DAE apresentaram concentrações maiores de triglicerídeos ($P < 0,05$). Nos machos os maiores valores foram registrados com 800 e 890 DAE ($P < 0,05$).

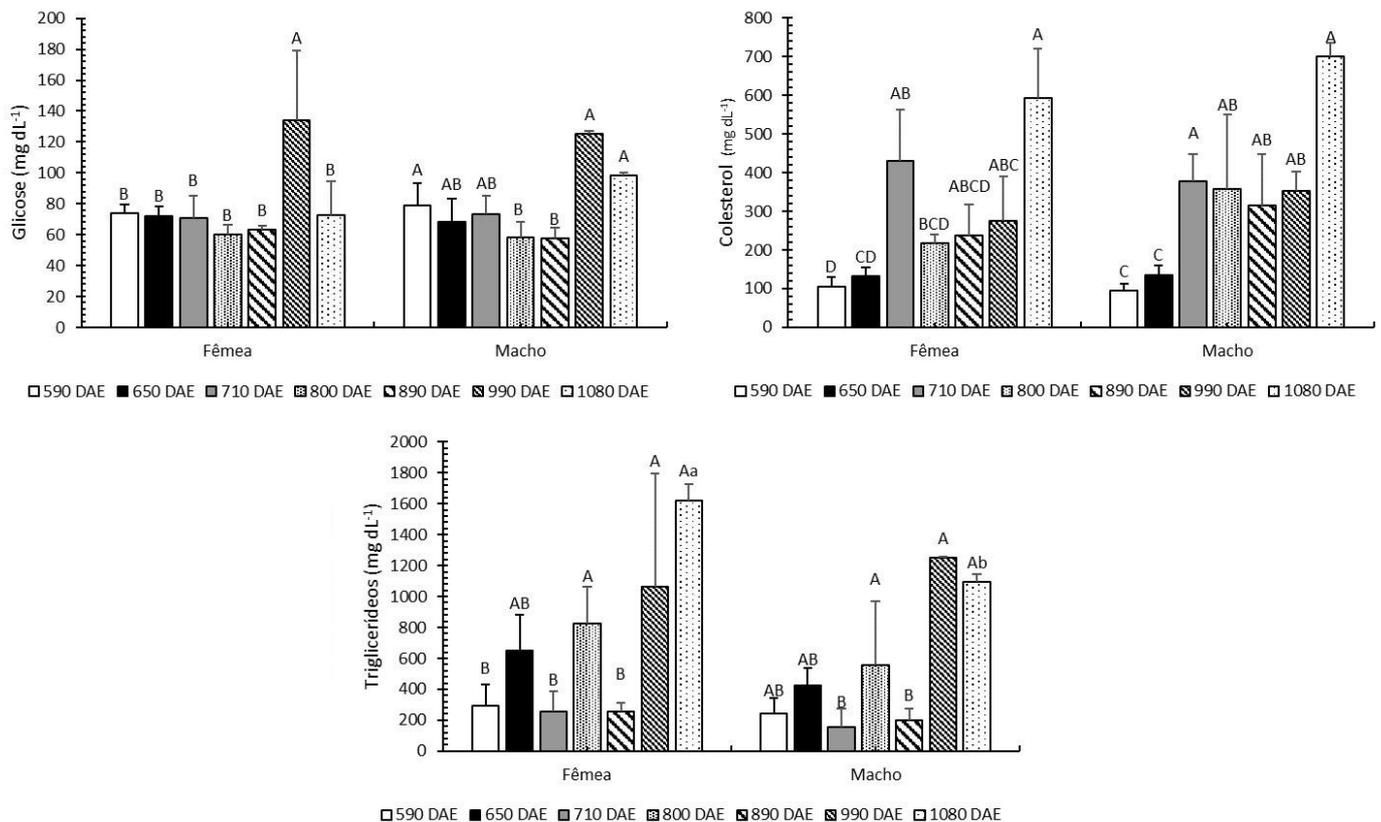


Figura 4. Valores médios (\pm erro padrão) de glicose (A), colesterol (B) e triglicerídeos (c) de *Colossoma macropomum* em sete idades após eclosão (DAE). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística para animais do mesmo sexo de diferentes idades, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre machos e fêmeas de mesma idade pelo teste T-Student ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Esse é o primeiro estudo que mostra a fisiologia de machos e fêmeas de *C. macropomum* durante a primeira maturação em condições totalmente controladas. A bioquímica sanguínea e hematologia são importantes ferramentas que podem auxiliar no monitoramento do ciclo de vida e maturação sexual dos peixes em cativeiro (Santos et al., 2009; Ramesh et al., 2018; Melillo-Filho et al., 2021) como também indicar alterações

fisiológicas dos animais (Soberon et al., 2014; Baghizadeh e Khara, 2015; Ahmed et al., 2020).

Durante o estudo, não houve diferença nos valores de hematócrito, proteína plasmática, hemoglobina, leucócitos, glicose e colesterol entre machos e fêmeas de mesma idade. Para o hematócrito, resultados semelhantes foram registrados por Seibert et al. (2001) para adultos de *C. macropomum* criados em cativeiro e por Santos et al. (2009) em robalos (*Centropomus parallelus*) adultos aclimatados e mantidos em laboratório, após captura na natureza. Em machos e fêmeas da mesma idade também não foi observada diferença nos valores de proteína plasmática para carpa cruciana (*Carassius carassius*) (Bojarski et al., 2023). Para hemoglobina, também não foi verificada diferenças entre machos e fêmeas de mesma idade de robalo (*C. parallelus*) (Santos et al., 2009), robalo riscado (*Morone saxatilis*) (Fazio et al., 2020) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Nabi et al., 2022). Sheikh et al. (2022) também não observaram diferença na contagem de leucócitos em machos e fêmeas de truta marrom (*Salmo trutta*), enquanto Melillo-Filho et al. (2021) não observaram diferença nas concentrações de glicose e colesterol em machos e fêmeas de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) de mesma idade. Os resultados sugerem que alguns parâmetros fisiológicos não sofrem interferência do sexo, quando os animais têm a mesma idade.

Na contagem de eritrócitos, hematócrito, proteína plasmática e hemoglobina não houve diferença para os machos dentro das diferentes idades. Este fato demonstra que durante o desenvolvimento, machos foram menos influenciados pela idade do que as fêmeas. Essas alterações mais significativas nas fêmeas podem ser relacionadas com a maturação gonadal, que demanda exigência maior de energia para realização de todo o processo fisiológico e metabólico até o momento da desova (Washburn et al., 1992; Chatzifotis et al., 2004).

Para o hematócrito, no presente estudo houve diferença entre fêmeas de idades distintas. Este fato pode ser devido aos diferentes estádios de maturação sexual conforme verificado no presente trabalho e discutido por Baghizadeh e Khara, (2015) para carpa comum (*Cyprinus carpio*). Contudo, para outras espécies como, beluga (*Huso huso*) (Akrami et al., 2013) e robalo (*C. parallelus*) (Santos et al., 2009), não houve alteração no hematócrito em fêmeas, independentemente da idade ou do estágio de maturação sexual, indicando a particularidade de cada espécie. Apesar dessa diferença, em todas as coletas, machos e fêmeas de *C. macropomum* apresentaram valores considerados dentro da normalidade para peixes teleósteos saudáveis (Hrubec e Smith, 2010).

A proteína plasmática é um bom indicador nutricional e imunológico a ser observados em *C. macropomum* (Liebl et al., 2022). Nos animais adultos e em processo reprodutivo, essa variável pode auxiliar na escolha de reprodutores para compor o plantel já que proteínas presentes no plasma como a albumina, são responsáveis pelo transporte de lipídeos e hormônios esteroides (McDonald e Milligan, 1992; Melillo-Filho et al., 2021). As concentrações de proteína plasmática foram maiores nas fêmeas com 1080 DAE. Este fato pode ser atribuído a fase reprodutiva mais avançada nessa idade. Nesta fase, esse aumento significativo pode indicar a mobilização de lipoproteínas em virtude da maturação dos oócitos (Ghoroghi et al., 2009), corroborando com resultados obtidos por Yeganeh (2012), onde houve aumento da concentração de proteína plasmática em fêmeas de carpa comum (*Cyprinus carpio*), com 1095 DAE.

Com relação a hemoglobina, nas fêmeas foi observada diferença entre animais de idades distintas, não sendo possível estabelecer um padrão de alteração relacionando com o processo de maturação sexual. A hemoglobina é a proteína responsável por transportar oxigênio para os tecidos através da corrente sanguínea, sendo importante para identificar problemas relacionados a hipóxia em peixes (Souza e Bonilla-Rodriguez, 2007), fato não registrado durante o presente estudo.

Comparando machos e fêmeas de mesma idade (890 e 990 DAE), os machos apresentaram maior quantidade de eritrócitos nas duas coletas. Acreditamos que esse fato tem relação direta com o desenvolvimento gonadal dos machos que atingiram a primeira maturação (710 DAE) antes das fêmeas. Além disso, podem ocorrer alterações fisiometabólicas e influência de hormônios sexuais nesta fase, principalmente da testosterona, levando ao aumento da liberação de eritrócitos na corrente sanguínea (Vosyliené, 1999; Golemi et al., 2013).

A glicose sérica tem função primordial na identificação do nível de estresse a qual o animal foi submetido (Hertz et al., 1989). Porém, outros fatores também podem alterar o nível de glicose na corrente sanguínea, como a concentração de amônia na água (Cavero et al., 2004), uso de anestésicos (Ferreira et al., 2023), restrição da dieta (Favero et al., 2021) e o processo de maturação gonadal (Melillo-Filho et al. 2021). No presente estudo foi observado um pico de glicose nas fêmeas com 990 DAE. Nas outras coletas, as concentrações se mantiveram iguais. Acreditamos que esse fato ocorreu devido ao processo final de maturação sexual e a característica da espécie, que por ser reofílica e não ter sido submetida o estímulo final de maturação por indução hormonal para conseguir desovar, possa, ter levado a esse

aumento. Este fato foi relatado por Dai et al. (2014) na regulação dos níveis de glicose no sangue em truta arco-íris (*O. mykiss*). Para a glicose também houve diferença entre machos de idades distintas, onde, as maiores concentrações foram observadas em animais mais velhos. Resultados semelhantes foram registrados por Baghizadeh e Khara, (2015) em machos adultos de carpa comum (*C. carpio*) cultivados também em sistema fechado. Porém, essa variação na concentração de glicose em machos não segue um padrão para diferentes espécies, uma vez que em machos de pacamã (*L. alexandri*) mantidos em condições controladas, as concentrações de glicose foram reduzindo à medida que os animais avançavam em seu processo de maturação sexual, e conseqüentemente a idade (Melillo-Filho et al., 2020). Contudo, cabe destacar que o pacamã (*L. alexandri*) é uma espécie sedentária que passa grande parte do tempo parada no tanque (Costa et al., 2015) comparado ao *C. macropomum*.

Colesterol e triglicerídeos estão diretamente ligados ao processo de maturação sexual, já que essas reservas lipídicas, além de serem indicadores nutricionais e metabólicos são fontes de energia para o desenvolvimento gonadal dos peixes (Nicula et al., 2010; Jia et al., 2018). Houve diferença nos valores de colesterol entre fêmeas de idades distintas com aumento em fêmeas com 710 DAE e 1080 DAE. Fato semelhante ocorreu nos machos de diferentes idades. Esses resultados também podem estar relacionados com o processo de maturação em fêmeas e machos. Contudo, não houve diferença entre os sexos independentemente da idade. Essa ausência de diferença entre sexos de mesma idade também foi registrada em carpa comum (*C. carpio*) (Baghizadeh e Khara, 2015) e carpa-do-limo (*Ctenopharyngodon idella*) (Ejraei et al., 2015).

Para os triglicerídeos foi observada diferença entre machos e fêmeas com 1080 DAE. Também houve diferenças entre peixes do mesmo sexo com idades distintas, o que também pode indicar efeitos do crescimento e processo reprodutivo. Okoye et al. (2016) também verificaram em catfish africano (*Clarias gariepinus*) maiores valores de triglicerídeos para peixes mais velhos. Contudo, Melillo-Filho et al. (2021) verificaram situação contrária, com triglicerídeos mais alto em *L. alexandri* mais jovens. Dessa forma, fica evidente a influência da idade e espécie nos valores de triglicerídeos.

A escassez de estudos relacionando a maturação sexual de peixes adultos com hematologia e bioquímica sanguínea dificulta a comparação de resultados obtidos para o *C. macropomum*, devido ao fato da utilização apenas de juvenis em estudos avaliando esses parâmetros (Tavares-Dias et al., 1999; Chagas et al., 2013; Soberon et al., 2014; Costa et al.,

2019; Bussons et al., 2021; Pereira et al., 2021; Guilherme et al., 2022) o que também ressalta a importância do nosso estudo.

5. CONCLUSÕES

Machos e fêmeas de *C. macropomum* de mesma idade apresentaram, durante o seu desenvolvimento, ter semelhanças em sua hematologia, bioquímica sanguínea e hormonal. Já, fêmeas durante o crescimento acompanhado da maturação sexual apresentaram mais variações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos, do que machos em diferentes idades.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil - 402952/2021-9), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-Brazil APQ-01531-21), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brazil). Luz, R. K. recebeu bolsa de pesquisa do CNPq (CNPq No. 308547/2018-7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, I., Reshi, Q. M., Fazio, F. 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquaculture International*, v.28, p.869-899. Doi: 10.1007/s10499-019-00501-3.
- Akrami, R., Gharaei, A., Karami, R. 2013. Age and sex specific variation in hematological and serum biochemical parameters of Beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *Int. J. Aquat. Biol*, v.1, n, 3, p.132-137. Doi:10.22034/ijab.v1i3.63.
- Almeida, F. L., Lopes, J. S., Crescencio, R., Izel, A. C. U., Chagas, E. C., Boijink, C. 2016. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. *Aquaculture*, v. 452, p. 224–232. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.10.031.
- Baghizadeh, E., Khara, H. 2015. Variability in hematology and plasma indices of common carp *Cyprinus carpio*, associated with age, sex and hormonal treatment. *Iran J of Fish Sci*, v.14, n.1, p.99-111.
- Baldisserotto, B., Gomes, L.C. 2010. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 608 p.

- Barroso, D. C., Almeida-Val, V. M. F., Val, A. L. 2020. Temperature and food availability alters the physiology and aerobic capacity of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Comp Bio Physiol, Part A*, v. 245, p. 110704. Doi: 10.1016/j.cbpa.2020.110704.
- Bojarski, B., Socha, M., Szala, L., Medkova, D., Hollerova, A., Drag-Kozak, E., Zajac, S., Rombel-Bryzek, A. 2023. Does the site of blood collection and sex of crucian carp (*Carassius carassius*) affect hematological and blood biochemical results? *Fish Aquat L*, v.31, p.24 – 30. Doi: 10.2478/aopf-2023-0003.
- Bussons, I. N. B., Sousa, E. S., Aride, P. H. R., Duncan, W. L. P., Pantoja-Lima, J., Furuya, W. M., Oliveira, A. T., Bussons, M. R. F. M., Faggio, C. 2021. Growth performance, hematological responses and economic indexes of *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) fed graded levels of glycerol. *Comp. Bio. Physiol*, parte C, v. 249, p.109122. Doi: 10.1016/j.cbpc.2021.109122.
- Cavero, B. A. S., Pereira-Filho, M., Bordinhon, A. M., Fonseca, F. A . L., Ituassú, D. R., Roubach, R., Ono, E. A. 2004. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. *Pesqui. Agropecu. Bras*, 39:513-516.
- Chagas, E. C., Pilarski, F., Sakabe, R. Moraes, F. R. 2013. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.48, n.8, p.899-905. Doi: 10.1590/S0100-204X2013000800013.
- Chatzifotis, S., Muje, P., Pavlidis, M., Agren, J., Paalavuo, M., Mölsä, H. 2004. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture*, v.236, p.557-573. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.12.004.
- Clauss, T. M., Dove, A. D. M., Arnold, J. E. 2008. Hematologic disorders of fish. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract*, v. 11, p. 445–462. Doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.007.
- Costa, D. C., Souza e Silva, W., Melillo-Filho, R., Filho, K. C. M., Santos, J. C. E., Luz, R. K. 2015. Capture, adaptation and artificial control of reproduction of *Lophiosilurus alexandri*: A carnivorous freshwater species. *Anim. Reprod. Sci*, v.159, p.148–154. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2015.06.009.

- Costa, O. T. F., Dias, L. C., Malmann, C. S. Y., Ferreira, C. A. L., Carmo, I. B., Wischnesk, A. G., Sousa, R. L., Cavero, B. A. S., Lameiras, J. L. V., Dos-Santos, M. C. 2019. The effects of stocking density on the hematology, plasma protein profile and immunoglobulin production of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in Brazil. *Aquac*, v. 499, p.260–268. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.040.
- Dai, W., Panserat, S., Terrier, F., Seiliez, I., Skiba-Cassy, S. 2014. Acute rapamycin treatment improved glucose tolerance through inhibition of hepatic gluconeogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*, v. 307, p. 1231-1238. Doi: 10.1152/ajpregu.00166.2014.
- Ejraei, F., Ghiasi, M., Khara, H. 2015. Evaluation of hematological and plasma indices in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, with reference to age, sex, and hormonal treatment – *Arch. Polish Fish*, v.23, p.163-170. Doi:10.1515/aopf-2015-0019.
- Favero, G. C., Santos, F. A. C., Julio, G. S. C., Pedras, P. P. C., Ferreira, A. L., Souza e Silva, W., Ferreira, N. S., Neves, L. C., Luz, R. K. 2021. Effects of short feed restriction cycles in *Piaractus brachypomus* juveniles. *Aquac*, v. 536, e. 736465. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736465.
- Fazio, F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquac*, v. 500, p. 237–242. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.10.030.
- Fazio, F., Lanteri, G., Saoca, C., Iaria, C., Piccione, G., Orefice, T., Calabrese, E., Vazzana, I. 2020. Individual variability of blood parameters in striped bass *Morone saxatilis*: possible differences related to weight and length. *Aquac. Int.* 28, 1665–1673. Doi:10.1007/s10499-020-00550-z.
- Ferreira, A. L., Souza, A. S., Santos, F. A. C., Pinheiro, C. G., Favero, G. C., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., Luz, R. K. 2023. Hesperozygis ringens essential oil as an anesthetic for *Colossoma macropomum* during biometric handling. *Cienc. Rural, Santa Maria*, v, 53, n.9, e20220264. Doi:10.1590/0103-8478cr20220264.
- Ghoroghi, A., Nazami, M., Atef, Y. A., Mottalebi, A. A. 2009. Characterization of serum proteins in various growth stages of *Ctenopharyngodon idella* in Iranian fish farming. *J. Comp. Pathol*, v. 141, n.4 p. 287-287. Doi: 10.1016/j.jcpa.2009.08.038.

- Golemi, S., Medja, N., Lacej, D. 2013. Influence of sex on the hematological and morphometric parameters of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) from Shkodra Lake. Acad. J. Interdiscip. Stud, v.2, p.45–49. Doi: 10.5901/ajis.2013.v2n8p45.
- Gonçalves Junior., L. P., Ferreira, A. S., Torres, I. F. A., Silva, W. S. E., Costa, L. S., López-olmeda, J. F., Costa, N. C.S., Ribeiro, P. A. P., Costa, D. C., Luz, R. K. 2023. Feeding frequency on *Lophiosilurus alexandri*: performance, hematology, and daily rhythms. J. Appl. Aquac, v. 35, p. 149-166. Doi: 10.1080/10454438.2021.1944421.
- Guilherme, H. O., Santos, F. A. C., Costa, L. S., Prado, V. G. L., Palheta, G. D. A., Melo, N. F. A. C., Luz, R. K., Ribeiro, P. A. 2022. Feeding, growth, and blood chemistry of the tambaqui (*Colossoma macropomum*) held under self-feeding and time-restricted automatic feeding conditions. Aquac. Int, v.30, p.323–339. Doi: 10.1007/s10499-021-00801-7.
- Hertz, Y.; Madar, Z.; Hepher, B.; Gertler, A. 1989. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*): the effects of cobalt and chromium. Aquac, v. 76, p. 255-267. Doi: 10.1016/0044-8486(89)90079-3.
- Hrubec, T. C., Smith, S. A. 2010. Hematology of fishes. Pp. 994-1003. In: Weiss, D. J e K. J. Wardrop (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell.
- IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2022; Rio de Janeiro: IBGE, 2023 Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>>.
- Jia, Y., Gao, Y., Chen, X., Huang, B. 2018. Determination of optimal fasting time before blood sampling to get baseline data on serum biochemical characteristics in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquac, v.487, p.83-88. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.01.009.
- Liebl, A. R. S., Cáo, M. A., Nascimento, M. S., Castro, P. D. S., Duncan, W. L. P., Pantoja-Lima, J., Aride, P. H. R., Bussons, M. R. F. M., Furuya, W. M., Faggio, C., Oliveira, A. T. 2022. Dietary lysine requirements of *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) based on growth performance, hepatic and intestinal morphohistology and hematology. Vet. Res. Commun, v.46, p.1-17. Doi:10.1007/s11259-021-09872-6.
- McDonald, D.G., Milligan, C. L. 1992. Chemical properties of the blood. In: Hoar, W. S., Randall, D.J., Farrell, A.P. (Eds.), Fish Physiol. Elsevier Inc., The

Netherlands, pp. 55–133.

- Melillo-Filho, R., Bazzoli, N., Souza e Silva, W., Costa, D. C., Boaventura, T. P., Julio, G. S. C., Luz, R. K. 2020. Rearing and maturation of *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876) in controlled conditions: First reports and future perspective. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 214, p. 106311. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2020.106311.
- Melillo-Filho, R., Mattioli, C. C., Leme, F. O. P., Silva, W. S., Costa, D. C., Julio, G. S. C., Luz, R. K. 2021. Influence of sex and age on biochemical parameters of *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876): First results. *Aquac. Res.*, v.52, p.2873–2878. Doi: 10.1111/are.15138.
- Nabi, N., Ahmed, I., Wani, G. B. 2022. Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. *Saudi J. Biol. Sci.*, v. 29, p. 2942-2957. Doi:10.1016/j.sjbs.2022.01.019.
- Nicula, M., Bura, M., Simiz, E., Banatean-Dunea, I., Patruica, S., Marcu, A., Lunca, M., Szelei, Z. 2010. Researches concerning reference values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from Acipenseridae, Cyprinidae, Esocidae and Salmonidae family. *Sci. Pa. Anim. Sci. Biotechno.*, v.43, n.1, p.498-505.
- Okoye, C. N., Dan-Jumbo, S. O., Agina, O. A., Eze, U. U., Udoumoh, A. F. 2016. Reference intervals for the serum biochemistry and lipid profile of male broodstock African catfish (*Clarias gariepinus*: Burchell, 1822) at varied ages. *Not. Sci. Biol.*, v. 8, n.4, p. 437-443. Doi: 10.15835/nsb849851.
- Pereira, L. A. L., Amanajás, R. D., Oliveira, A. M., Silva, M. N. P., Val, A. L. 2021. Health of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*): Effects of prolonged photoperiod and high temperature. *Aquac.*, v.541, p.736836. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736836.
- Ramesh, M., Thilagavathi, T., Rathika, R., Poopal, R. K. 2018. Antioxidant status, biochemical, and hematological responses in a cultivable fish *Cirrhinus mrigala* exposed to an aquaculture antibiotic Sulfamethazine. *Aquac.*, v. 491, p. 10-19. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.02.046.

- Ranzani-paiva, M. J. T., Pádua, S. B., Tavares-Dias, M., Egami, M. I. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Eduem, 1ª ed. 140 p. ISBN: 978-85- 7628-530-4.
- Reis, V. R., Almeida, F. L. 2018. Effect of 17 β -oestradiol on the sex ratio of tambaqui, *Colossoma macropomum*. Aquac. Res, p. 1–8. Doi: 10.1111/are.13878.
- Saint-Paul, U. 2017. Native fish species boosting Brazilian's aquaculture development Espécies nativas de peixes impulsionam o desenvolvimento da aquicultura brasileira. Acta Fish. Aquat. Res, v. 5, p. 1–9. Doi: 10.2312/ActaFish.2017.5.1.1-9.
- Santos, A. A., Egami, M. I., Ranzani-Paiva, M. J. T., Juliano, Y. 2009. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): Seasonal variation, sex and gonadal maturation. Aquac, v.296, n.3-4, p.359-366. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.08.023.
- Santos, F. A. C., Boaventura, T. P., Júlio, G. S. C., Cortezzi, P. P., Figueiredo, L. G., Favero, G. C., Palheta, G. D. A., Correio de Melo, N. F. A., Luz, R. K. 2021a. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): Importance of stocking density and classification. Aquac, v.534, p.736274. Doi:10.1016/j.aquaculture.2020.736274.
- Santos, F. A. C., Julio, G. S. C., Luz, R. K. 2021b. Stocking density in *Colossoma macropomum* larviculture, a freshwater fish, in recirculating aquaculture system. Aquac. Res, v. 52, p. 1185–1191. Doi: 10.1111/are.14976.
- Seibert, C. S., Guerra-Shinohara, E. M., Carvalho, E. G., Marques, E. E. 2001. Red blood cell parameters and osmotic fragility curve of *Colossoma macropomum* (Pisces, Osteichthyes, Mileinae) in captivity. Acta Sci, Maringá, v. 23, n. 2, p. 515-520.
- Sheikh, Z. A., Ahmed, I., Jan, K., Nabi, N., Fazio, F. 2022. Haematological profile, blood cell characteristic and serum biochemical composition of cultured brown trout, *Salmo trutta fario* with respect to sex. Heliyon, v.8, p.10247. Doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10247.
- Soberon, L., Mathews, P., Malheiros, A. 2014. Hematological parameters of *Colossoma macropomum* naturally parasitized by *Anacanthorus spathulatus* (Monogenea: Dactylogiridae) in fish farm in the Peruvian Amazon. Int Aquat Res, v.6, p.251–255. Doi: 10.1007/s40071-014-0087-1.

- Souza, P.C., Bonilla-Rodriguez, G.O. 2007. Fish hemoglobins. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, v. 40, p. 769–778. Doi:10.1590/S0100-879X2007000600004.
- Souza e Silva, W., Ferreira, A. L., Neves, L. C., Ferreira, N. S., Palheta, G. D. A., Takata, R., Luz, R. K. 2021. Effects of stocking density on survival, growth and stress resistance of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in a recirculating aquaculture system (RAS). *Aquac Int.*, v.29, p.609–621. Doi: 10.1007/s10499-021-00647-z.
- Tanuja, S., Kumar, A., Nayak, S. K. 2017. Effect of dietary intake of acid ensiled fish waste on the growth, feed utilization, hematology and serum biochemistry of rohu *Labeo rohita*, (Hamilton, 1822) fingerlings. *Indian J. Anim.*, v.51, n.3, p.501-505. Doi: 10.18805/ijar.v0i0f.3792.
- Tavares-Dias, M., Sandrim, E. F. S., Campos-Filho, E. 1999. Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. *Revta bras. Zoo.*, v.16 n.1, p.175 – 184.
- Tavares-dias, M., Moraes, F. R. 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto – SP. 144 p.
- Vosyliéné, M. Z. 1999. The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). *Acta Zoo. Lit.*, v. 9, p.76-82. Doi: 10.1080/13921657.1999.10512290.
- Washburn B.S., Bruss M.L., Avery E.H., Freedland R.A. 1992. Effects of estrogen on whole animal and tissue glucose use in female and male rainbow trout – *Am. J. Physiol.*, v.263, p.1241-1247. Doi: 10.1152/ajpregu.1992.263.6.R1241.
- Witeska, M., Kondera, E., Lugowska, K., Bojarski, B. 2022. Hematological methods in fish – Not only for beginners. *Aquac.*, v. 547, p. e737498. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737498.
- Woynárovich, A., Van Anrooy, R. 2019. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 624*. FAO, p. 1-121.
- Yeganeh, S. 2012. Seasonal changes of blood serum biochemistry in relation to sexual maturation of female common carp (*Cyprinus carpio*). *Comp Clin Pathol.*, v.21, p.1059–1063. Doi: 10.1007/s00580-011-1229-0

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que o *C. macropomum* é uma espécie que se adapta bem ao sistema de recirculação de água.

Em SRA, machos e fêmeas crescem de forma homogênea, porém os machos atingem a maturidade sexual primeiro, na comparação com as fêmeas.

O presente estudo mostrou que machos e fêmeas de *C. macropomum* de mesma idade apresentam perfil hematológico e bioquímico sanguíneo semelhantes, contudo, ao comparar fêmeas de idades distintas, devemos destacar que houve uma variação maior do que nos machos.

Este trabalho se destaca por ser o primeiro estudo a acompanhar todo o desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas de tambaqui, até atingirem a primeira maturação sexual em sistema de recirculação. Gerando importantes resultados, mostrando que é possível utilizar o SRA para larvicultura, formação de plantel e reprodução da espécie.

Recomendamos que novos estudos sejam realizados com o objetivo de testar densidades de estocagem maiores dentro desse tipo de sistema, podendo otimizar ainda mais a produção. Além de analisar outros parâmetros bioquímicos sanguíneos e parâmetros hormonais de peixes adultos desta espécie, para complementar os resultados deste trabalho. Gerando assim, novos dados que possam servir de parâmetro para estudos futuros.