

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ENERGIA DIGESTÍVEL PARA REPRODUTORES DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus* L.)

Autor: Robie Allan Bombardelli
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro - 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ENERGIA DIGESTÍVEL PARA REPRODUTORES DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus* L.)

Autor: Robie Allan Bombardelli
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós – Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro - 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ENERGIA DIGESTÍVEL PARA REPRODUTORES DE
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus* L.)

Autor: Robie Allan Bombardelli
Orientador: Prof. Dr. Carmino Hayashi

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia – Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 22 de novembro de 2007

Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes

Profa. Dra. Elizabeth Romagosa

Profa. Dra. Maria Raquel Marçal Natali

Prof. Dr. Nyamien Yahaut Sebastien

Prof. Dr. Carmino Hayashi
(Orientador)

“ O verdadeiro cristão se justifica pela fé e não pelos trabalhos da lei.”

Paulo de Tarso
Concílio de Jerusalém (49 d.C.)

Aos

meus pais, Julita e Dorvalino Bombardelli
pelo incentivo, dedicação e esforço

Ao

meu irmão Jairo (*in memoriam*),
pelas sábias orientações e exemplos, que me conduziram

À

minha esposa Mirna e à minha filha Maria Eduarda,
pela paciência, carinho, compreensão e apoio nos
momentos de ausência
e mais uma vez, pelos finais de semana perdidos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Carmino Hayashi, pela confiança, dedicação, oportunidade, ensinamentos e orientação.

Aos professores do Programa de Pós – Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá, pelos ensinamentos.

Ao Centro de Pesquisa em Aqüicultura Ambiental (CPAA) do Instituto Ambiental do Paraná (IAP) pela cooperação e colaboração na realização deste trabalho.

À Professora Maria Raquel Marçal Natali pela grandiosa ajuda, paciência, ensinamentos sobre histologia e também pelo voto de confiança.

Ao Professor Gentil Vanini de Moraes, pelas sugestões durante o planejamento experimental.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Toledo, à Universidade Estadual de Maringá e à Pontifícia Universidade Católica – *Campus* de Toledo, pela disponibilidade de equipamentos.

Ao grande amigo Professor Fabio Meurer, pela amizade, companheirismo e incentivo.

Ao grande estagiário e amigo Eduardo Antônio Sanches, pelo auxílio e dedicação, pois sua participação foi determinante para a realização deste trabalho.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

BIOGRAFIA

ROBIE ALLAN BOMBARDELLI, filho de Julita e Dorvalino Bombardelli, nasceu na cidade de Marechal Cândido Rondon, Paraná, no dia 18 de abril de 1979.

Em Janeiro de 2002, concluiu o curso em nível de Graduação de Bacharelado em Engenharia de Pesca, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

Em março de 2002, iniciou o Curso de Pós – Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na área de Concentração – Produção Animal, pela Universidade Estadual de Maringá, desenvolvendo trabalhos na área de piscicultura.

Em abril de 2003, foi aprovado no Concurso Público para Professor Efetivo do Curso de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

No dia 23 de junho de 2003, foi submetido à avaliação da banca examinadora, para a defesa da Dissertação de Mestrado e obteve o título de Mestre em Zootecnia, com área de concentração em Produção Animal.

Em fevereiro de 2004 ingressou no Curso de Pós – Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, na área de Concentração – Produção Animal, pela Universidade Estadual de Maringá, desenvolvendo trabalhos na área de reprodução de peixes de água doce.

No dia 10 de maio de 2005 foi nomeado Coordenador do Colegiado do Curso de Engenharia de Pesca, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e reeleito em maio de 2007.

No dia 22 de novembro de 2007 foi submetido à avaliação pela banca examinadora de sua Tese de Doutorado e obteve o título de Doutor em Zootecnia, com área de concentração em Produção Animal.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE FIGURAS DO APÊNDICE	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
I – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - A espécie estudada	1
1.2 – Nutrição de reprodutores	2
1.3 – Energia dietética na nutrição de peixes.....	6
1.4 – Lipídios como fonte de energia metabólica para os reprodutores, os embriões e as proles.....	9
1.5 – Nutrição e endocrinologia de reprodutores.....	10
1.6 – Lipídios como precursores de hormônios	12
1.7 – Efeitos de lipídios em dietas de reprodutores sobre a qualidade dos gametas, embriões e das proles de peixes	14
1.8 – Literatura citada	18
II – OBJETIVOS GERAIS	24
III – Energia digestível a partir da inclusão do óleo de soja em rações para fêmeas de tilápia-do-Nilo: desempenho reprodutivo, zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos	25

Introdução	27
Material e Métodos	28
Resultados e Discussão	34
Conclusões	41
Literatura Citada	42
VI – Energia digestível a partir da inclusão do óleo de soja em rações para machos de tilápia-do-Nilo: desempenho reprodutivo, zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos	Erro! Indicador não definido.
Introdução	Erro! Indicador não definido.
Material e Métodos	Erro! Indicador não definido.
Resultados e Discussão	Erro! Indicador não definido.
Conclusões	Erro! Indicador não definido.
Literatura Citada	Erro! Indicador não definido.
VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS	Erro! Indicador não definido.
APÊNDICE.....	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Composição percentual das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizadas para reprodutores de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.).....	29
Tabela 2 – Composição química das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizadas para reprodutores de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.).....	30
Tabela 3 – Desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.	36
Tabela 4 – Desempenho zootécnico de fêmeas de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.	38
Tabela 5 – Composição percentual das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizada para reprodutores de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.).....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 6 – Composição química das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizada para reprodutores de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.).....	Erro! Indicador não definido.

- Tabela 7 – Desempenho reprodutivo de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível. **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 8 – Desempenho zootécnico de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível na ração..... **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Interações do ácido araquidônico e do ácido eicosapentaenóico na produção de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos). Adaptado de Sargent (1995).....	12
Figura 2 – Representação esquemática da sequência dos cortes histológicos do tecido hepático, corados em Hematoxilina – Eosina (H.E.) e Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para realização das análises morfométricas.	33
Figura 3 – Método de análise de imagem (morfometria) do fígado de peixes por meio do software Image Pró-Plus 4.5 [®] . A1 = imagem do campo microscópico corado em H.E. A2 = negativo da imagem A1 marcando a área da veia centro lobular. B1=campo microscópico corado em H.E. marcando a área ocupada por sinusóides, núcleos e nucléolos. B2 = negativo da imagem B1. C1 = imagem do campo microscópico corado em P.A.S., marcando a área ocupada por glicogênio. C2 = negativo da imagem C1. As setas indicam a área marcada pelo software.	34
Figura 4 – Área percentual de inclusão por lipídeos em hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.	40
Figura 5 – Representação esquemática da sequência dos cortes histológicos do tecido hepático, corados em Hematoxilina – Eosina (H.E.) e Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para realização das análises morfométricas. Erro! Indicador não definido.	

- Figura 6 – Método de análise de imagem (morfometria) do fígado de peixes por meio do software Image Pró-Plus 4.5[®]. A1 = imagem do campo microscópico corado em H.E. A2 = negativo da imagem A1 marcando a área da veia centro lobular. B1=campo microscópico corado em H.E. marcando a área ocupada por sinusóides, núcleos e nucléolos. B2 = negativo da imagem B1. C1 = imagem do campo microscópico corado em P.A.S., marcando a área ocupada por glicogênio. C2 = negativo da imagem C1. As setas indicam a área marcada pelo software.**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7 – Concentração espermática em sêmen de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível. CSPZ = Concentração espermática; spz = espermatozóides; ED = energia digestível.**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8 – Espermatozóides normais em sêmen de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível. SPZN = espermatozóides normais; ED = energia digestível.**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9 – Área percentual de inclusão por lipídeos em hepatócitos de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE FIGURAS DO APÊNDICE

	Página
Figura A – Cortes histológicos do tecido hepático de reprodutores fêmeas de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados com rações com diferentes níveis de energia digestível (2.700 a 3.700). A-E:Hematoxilina – Eosina. A'-E': Ácido Periódico de Schiff. Imagem capturada com aumento de 40X.....	Erro! Indicador não definido.
Figura B – Cortes histológicos do tecido hepático de reprodutores machos de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados com rações com diferentes níveis de energia digestível (2.700 a 3.700). A-E:Hematoxilina – Eosina. A'-E': Ácido Periódico de Schiff. Imagem capturada com aumento de 40X.....	Erro! Indicador não definido.

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo e zootécnico, além da deposição de lipídios no tecido hepático de fêmeas e machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, a partir da inclusão do óleo de soja. Foram utilizados 400 reprodutores, sendo 300 fêmeas e 100 machos, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os reprodutores foram alimentados com rações contendo 35% de proteína bruta e 2700, 2950, 3200, 3450 e 3700 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ e, submetidos ao manejo reprodutivos em “hapas” com descanso reprodutivo de 12 dias. Os níveis de energia digestível das rações oferecidas aos reprodutores não influenciaram ($P>0,05$) o percentual de fêmeas desovantes, a fecundidade, nem as características dos ovos e das proles. A produção de sêmen, o pH seminal, o índice de sobrevivência e tempo de ativação espermática, não foram influenciados ($P>0,05$) pelas rações. O desempenho zootécnico dos reprodutores de ambos os sexos também não foi influenciado pelos tratamentos ($P>0,05$). Contudo, as rações contendo 3465,56 e 3443,43 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹, promoveram o aumento ($P<0,05$) da concentração e da normalidade espermática, produzindo $7,98 \times 10^9$ espermatozoides.mL de sêmen liberado⁻¹ e 38,98% de espermatozoides normais. Os níveis de energia das rações também causaram um aumento ($P<0,05$) das inclusões lipídicas nos hepatócitos dos peixes de ambos os sexos. Os resultados de desempenho reprodutivo e zootécnico das fêmeas podem estar associados ao curto período de tempo em que os reprodutores foram alimentados com as rações experimentais ou até mesmo pela possível redução dos níveis de ácidos graxos n-3 nas rações. A melhora do desempenho reprodutivo dos

machos pode ter relação com o aumento da energia metabólica disponível para a espermatogênese e com a maior disponibilidade de ácidos graxos n-6. De modo geral, os níveis crescentes de energia digestível nas rações oferecidas aos reprodutores afetaram apenas o desempenho reprodutivo dos machos, onde 3465,56 e 3443,43 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ garantem melhores concentrações e normalidade espermática. Além disso, os níveis energéticos crescentes nas rações promoveram, em ambos, os sexos o incremento da ocupação do hepatócitos por lipídeos.

Palavras-chave: fígado, nutrição, *Oreochromis niloticus*, peixe, reprodução

ABSTRACT

The present study was carried out to evaluate the reproductive and zootechnical performance, and the lipids deposition in the liver tissue of females and males of-the-Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing different levels of digestible energy, from the soybean oil inclusion. There were used 400 breeding, being 300 females and 100 males, distributed in a completely randomized design, composed of five treatments and four replications. The breeding were fed with diets containing 35% of crude protein in 2700, 2950, 3200, 3450 and 3700 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹, and submitted to the hapas reproductive management with reproductive rest of 12 days. The diets levels of digestible energy offered to breeding did not influence (P>0.05) the spawning females' percentage, fertility, or the eggs and offsprings characteristics. The sperm production, the seminal pH, the survival rate and sperm activation time, were not affected (P>0.05) by rations. The zootechnical performance of breeding from both sexes also was not influenced by treatments (P> 0.05). However, the diets containing 3465.56 and 3443.43 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹, increased (P<0.05) the spermatic concentration and normality, producing 7.98 x10⁹ sperms.mL per released semen⁻¹ and 38.98% of normal sperm. The diets energy levels also caused an increase (P<0.05) of lipid inclusions in fish hepatocytes of both sexes. The reproductive and zootechnical performance results of females may be associated with the short period of time that the breeding were fed with experimental diets or even the possible reduction of n-3 fatty acids levels in the diet. The reproductive performance improvement of male may be related with the increased metabolic energy available for spermatogenesis and with the increased availability of n-6 fatty acids. Overall, the increasing levels of digestible energy in feed offered to breeding affected only the

reproductive performance of males where 3465.56 and 3443.43 kcal energy digestivel.kg of feed⁻¹ ensure better and normal sperm concentrations. Moreover, the increasing energy levels in diets promoted, in both sexes the increase in the hepatocytes occupation by lipids.

Key words: fish, liver, nutrition, *Oreochromis niloticus*, reproduction

I – INTRODUÇÃO

1.1 - A espécie estudada

Tilápia é um nome comumente utilizado para definir um grande número de espécies de peixes pertencentes à tribo *Tilapiini*, um grupo exclusivamente africano de peixe, dentro da Família *Cichlidae*, em que somente 8 ou 9 espécies destacam-se na aquicultura (McAndrew, 2000). Inicialmente, considerada somente como um único gênero, *Tilápia*. Atualmente três gêneros são significativamente reconhecidos com potencial para cultivos: *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis* (Turner & Robinson, 2000).

O cultivo das tilapias teve início com o objetivo de desenvolver sistemas de criação de subsistência, em países em desenvolvimento (Lovshin, 1997).

A primeira espécie introduzida em outros países foi a *O. mossambicus* (Lazard & Rognon, 1997; Popma & Phelps, 1998). De acordo com El-Sayed (1999), cerca de 22 espécies de tilápia são cultivadas no mundo e, dentre estas, as espécies do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, têm sido consideradas mais importantes para o cultivo devido a rápida taxa de crescimento, adaptabilidade as diversas condições de cultivo e aceitação pelo consumidor (Hayashi, 1995; MacIntosh & Little, 1995; Boscolo et al., 2001; Meurer et al., 2002). Também é tolerante às condições de baixa qualidade de água (Popma & Phelps, 1998) e apresenta baixo custo de produção (Lahav & Ra'nam, 1997).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente da Costa do Marfim, foi introduzida no Brasil em 1971, no estado do Ceará, com o objetivo principal de

aumentar a produção pesqueira dos reservatórios da região e melhorar a qualidade de vida da população sertaneja (Gurgel, 1983).

O interesse pelo cultivo de tilápia no sul e sudeste do Brasil, cresceu rapidamente nas últimas décadas, sendo atualmente criada tanto em sistemas semi-intensivos, consorciadas com outros animais, a até mesmo intensivos em “raceways” e tanques-rede (Kubitza, 2000).

A tilápia consiste no segundo maior grupo de peixes de água doce cultivado em todo o mundo, sendo inferior apenas às carpas (Alceste & Jorry, 1998, Watanabe et al., 2002; Borghetti et al., 2003). O cultivo desta espécie tem se mostrado como uma das atividades agropecuárias de maior crescimento em nível mundial. Com taxa de crescimento anual de 13,4% entre os anos de 1970 e 2002, a tilápia representa atualmente 6% do total de peixes cultivados (FAO, 2004).

Os maiores produtores mundiais de tilápias encontram-se no continente asiático, com destaque para a China, Filipinas e Tailândia (Lovshin, 1997, Lovshin, 1998; Lovshin & Cyrino, 1998) e nas Américas do Norte e Central é a Costa Rica (Borghetti et al., 2003).

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2001, a produção de tilápia seguiu a mesma tendência mundial (Borghetti et al., 2003). Contudo, com a crescente taxa da produção piscícola brasileira, especialmente nos últimos 13 anos, as tilápias tornaram-se o principal grupo de peixe cultivado no Brasil, representando 32,50 e 37,90 % do total produzido em 2002 e 2003 (Crescêncio, 2005) e 37,96 % em 2005 (IBAMA, 2007).

1.2 – Nutrição de reprodutores

A adequada manutenção alimentar e nutricional dos estoques de reprodutores é importante, pois influenciam diretamente no desempenho reprodutivo dos peixes (Watanabe & Vassalo-Agius, 2003). A nutrição dos reprodutores reflete sobre o desenvolvimento inicial das formas jovens (Izquierdo et al., 2001), principalmente no que tange ao crescimento e maturação gonadal (Watanabe, 1985); a fecundidade (Bromage, 1995; Tyler & Sumpter, 1996); a qualidade dos gametas, dos embriões e das larvas, em termos de crescimento, sobrevivência e desenvolvimento da bexiga natatória (Izquierdo et al., 2001).

A relação entre a nutrição e a qualidade das proles é estabelecida nas fêmeas devido às reservas do reprodutor serem mobilizadas e transportadas para os ovos (Harvey & Carosfeld, 1993). As reservas mobilizadas servirão como fontes de nutrientes no período inicial de desenvolvimento (Mazorra et al., 2003), quando as larvas permanecem dependentes das reservas endógenas, até o desenvolvimento funcional do trato digestório, quando se inicia a alimentação exógena (Watanabe & Kiron, 1994).

Apesar da escassez de trabalhos realizados na avaliação do desempenho reprodutivo de machos, sabe-se que a nutrição e o manejo alimentar exercem influência sobre a qualidade do sêmen (Ferrell, 1991). Em peixes esta influência relaciona-se principalmente com o volume de sêmen liberado, concentração e motilidade espermática (Billard et al., 1995) e composição química do sêmen (Asturiano et al., 2001).

Os estudos relacionados com a nutrição de peixes têm sido um assunto bastante pesquisado nos últimos anos e, na tilapicultura especialmente, focado para as fases de crescimento até o tamanho comercial (NRC, 1993; Santiago & Laron, 2002). Contudo a nutrição de reprodutores de peixes é a área da nutrição menos conhecida e pesquisada (Izquierdo et al., 2001). Este fato pode ser atribuído a baixa escala de produção destas rações pelas indústrias devido a reduzida demanda pelo mercado consumidor (Bhujel, 2000), aos longos períodos experimentais necessários para que os animais alcancem a maturação sexual e o intenso trabalho (Brooks et al., 1997; Vassalo-Agius et al., 2001b). Associados a estes fatores, a necessidade de estrutura física para manter grandes estoques de animais adultos devidamente identificados, acarretando em altos custos, dificulta a realização dos experimentos (Izquierdo et al., 2001).

A preocupação com o desenvolvimento desta área da nutrição data de mais de duas décadas, quando se verificou que a falta de dietas adequadas para reprodutores se tornaria um fator limitante na performance reprodutiva de espécies marinhas (Watanabe, 1985; Watanabe & Vassalo-Agius, 2003) e de água doce (Woynarovich & Horváth, 1983).

Inicialmente alguns autores elaboraram experimentos relacionados com a taxa de fornecimento de alimento aos reprodutores (Springate et al., 1985). Assim, desde os anos 80, os estudos voltaram-se principalmente para os componentes individuais da dieta como macro e micro nutrientes (Bromage, 1995; Furuita et al., 2001).

Estudos relacionados com o efeito dos níveis de proteína dietética fornecidos aos estoques de reprodutores de *Oreochromis niloticus* sobre a idade de início da puberdade e a qualidade química dos ovócitos foram realizados por Gunasekera et al. (1995) e Al-Hafedh et al. (1999). Trabalhos semelhantes foram realizados para avaliar a performance reprodutiva de reprodutores da mesma espécie (Siddiqui et al., 1998) e a qualidade das proles, em termos de taxas de eclosão (Gunasekera et al., 1996) e crescimento das larvas (El-Sayed et al., 2003).

Outros autores têm pesquisado os efeitos de vitaminas e pigmentos sobre a reprodução de peixes. Uma das principais vitaminas estudadas têm sido as vitaminas C e a E devido as propriedades antioxidantes, além da primeira estar envolvida no metabolismo do colágeno, contribuindo assim para a formação dos ossos e da pele dos animais (Terova et al., 1998).

A suplementação da vitamina C em dietas de reprodutores de peixes foi estudada em truta arco - íris (*Oncorhynchus mikiss*) (Sandnes et al., 1984) e em tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) com melhoras nas taxas de eclosão, sobrevivência e desempenho das proles (Soliman et al., 1986; Kubitzka, 2000). Em “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) e “sea bream” (*Sparus aurata*) esta vitamina apresentou aumento na síntese de colágeno em embriões e larvas (Terova et al., 1998).

Outros autores pesquisaram o efeito combinado das vitaminas C e E em “milkfish” (*Chanos chanos*) e verificaram que apenas a suplementação da vitamina C ou a combinação de ambas desenvolvem resposta positiva quanto à reprodução e qualidade dos ovos (Emata et al., 2000). Lee & Dabrowski (2004) também verificaram que a suplementação das vitaminas C e E melhoram as taxas de crescimento e qualidade do sêmen de “yellow perch” (*Perca flavescens*).

A vitamina A também despertou o interesse de vários pesquisadores desta área, devido as suas funções biológicas relacionadas com promoção do crescimento, formação óssea, reprodução, visão e diferenciação de células epiteliais (Furuita et al., 2003). Neste sentido a suplementação da vitamina A em dietas de reprodutores foi testada quanto ao desempenho reprodutivo e qualidade de ovos em carpa cabeça – grande (*Aristichthys nobilis*) (Santiago & Gonza, 2000) e em “japanese flounder” (*Paralichthys olivaceus*) (Furuita et al., 2001; Furuita et al., 2003).

O uso de pigmentos presentes em alimentos componentes de dietas de reprodutores de truta arco – íris (*Oncorhynchus mikiss*) foi estudado por Tveranger (1986). Outros trabalhos foram realizados utilizando astaxantina, devido a semelhança

estrutural com a vitamina A livre, em dietas para reprodutores de “striped jack” (*Pseudocaranx dentex*) (Vassalo-Agius et al., 2001b). A “paprika” também foi testada como fonte de carotenóides em dietas de reprodutores de “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*) (Vassalo-Agius et al., 2001c).

Os efeitos de fatores anti nutricionais existentes nos alimentos sobre a reprodução de peixes, como a mimosina presente *Leucaena leucocephala*, utilizada como fonte de proteína vegetal, promoveram a redução no desempenho reprodutivo de *Oreochromis niloticus* (Santiago et al., 1988). O gossipol presente no farelo de algodão, quando incluído em dietas para reprodutores, prejudica o desempenho reprodutivo e, especialmente nos machos, leva a diminuição da espermatogênese (Salaro et al., 1999). Por outro lado, estudos sobre o efeito do gossipol dietético, por longos períodos, na fisiologia reprodutiva de truta arco-íris mostraram resultados interessantes, pois não apresentaram efeito sobre o crescimento de ambos os sexos e desempenho reprodutivo nos machos, mas foi deletério ao desempenho reprodutivo das fêmeas (Lee et al., 2006).

Os efeitos de ácidos graxos insaturados como o docosahexaenóico (DHA), o eicosapentaenóico (EPA) e o araquidônico (AA) foram avaliados sobre a performance reprodutiva e a qualidade dos ovos de “gilthead seabream” (*Sparus aurata* L.) (Almansa et al., 1999). Os efeitos dos mesmos ácidos graxos foram estudados quanto a qualidade de ovos e larvas de “Atlantic halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*) (Mazorra et al., 2003) e quanto ao perfil de ácidos graxos presentes nos ovos de “European sea bass” (*Dicentrarchus labrax*, L.). Bell et al. (1997) estudaram os efeitos dos mesmos ácidos graxos citados anteriormene sobre o desempenho reprodutivo de machos de “European sea bass” (Asturiano, et al., 2001).

Os efeitos de ácidos graxos da família ômega-3 sobre a qualidade de ovos e espermatozóides de truta arco-íris também foram estudados por Vassalo-Agius et al. (2001a). A influência da composição de ácidos graxos da dieta dos reprodutores sobre a sobrevivência das proles também foi pesquisado por Berntsson et al. (1997) em “European flat oyster” (*Ostrea edulis*).

De modo geral, as rações utilizadas atualmente em escala comercial para a nutrição de reprodutores de peixes têm sido as mesmas utilizadas para a fase de crescimento. Isto sugere o estudo de dietas adequadas, pois o desbalanço nutricional pode causar efeito deletério à atividade reprodutiva (Izquierdo et al., 2001).

Devido à escassez de informações, estudos recentes estão sendo conduzidos para determinar outros parâmetros espécie - específicos como, por exemplo, o período de

alimentação mínimo necessário prévio à reprodução, que deve ser dependente do tempo necessário para a maturação gonadal (Zaniboni-Filho & Nuñez, 2004).

Além disso, na nutrição de peixes deve ser considerado o fato de que as diferentes espécies, em diferentes estágios de desenvolvimento gonadal, apresentam necessidades fisiológicas distintas e, necessitam de níveis diferenciados de nutrientes (Pezzato et al., 2004). Isto implicará no fornecimento de diferentes dietas para diferentes espécies (Brooks et al., 1997) durante a maturação gonadal (Watanabe & Vassalo-Agius, 2003).

Mesmo que diversos estudos levem ao uso de alimentos alternativos, especialmente de origem vegetal, alguns autores, em uma linha de pensamento específica, sugerem que a formulação das dietas para reprodutores deve ser baseada na composição nutricional das dietas naturais, além da composição química dos ovócitos/ovos. Isto se deve ao fato de que dietas naturais têm mostrado melhores resultados (Brooks et al., 1997).

1.3 – Energia dietética na nutrição de peixes

De forma semelhante a outros animais, os peixes necessitam de energia para manter os processos bioquímicos e fisiológicos vitais, sejam estes voluntários ou involuntários, como crescimento, produção de óvulos e espermatozóides, comportamento reprodutivo, cuidado parental e outros (NRC, 1993; Kubitza, 2000; Pezzato et al., 2004).

A energia dietética também apresenta uma importante função que é a regulação da ingestão ou consumo de alimento, tanto em animais terrestres quanto nos peixes (Pezzato et al., 2004). Em dietas contendo altos níveis de energia, a saciedade pode ser alcançada antes de o peixe ter consumido a quantidade necessária de outros nutrientes para a obtenção de um bom índice de desempenho (Bhujel, 2000). A exemplo disso, a concentração adequada de proteína na ração está condicionada a um estreito balanço entre energia digestível e proteína bruta (Cho, 1992).

Os peixes gastam relativamente menos energia que outros animais como os mamíferos e as aves, pois não necessitam manter a temperatura corporal e os gastos com movimento na água são menores que em terra (Lovell, 1998; Pezzato et al., 2004). A excreção dos metabólitos nitrogenados principalmente na forma de amônia, nos teleósteos (Bombardelli et al., 2004), também permite maior economia de energia

metabólica. Desta forma, os peixes teleósteos perdem menos energia no catabolismo protéico e excreção de nitrogênio não aproveitado (Pezzato et al., 2004). Essa economia, em termos de energia, garante que os peixes possam mantê-la em seu próprio corpo para a manutenção de novos tecidos ou recuperar para outras funções metabólicas (Lovell, 1998).

Existem várias formas de perdas de energia entre a ingestão e a recuperação nos produtos animais. Assim, a energia digestível representa a energia bruta ingerida dos alimentos, corrigida pela perda de energia por meio das fezes; a energia metabolizável representa a energia digestível corrigida pelas perdas de energia através das brânquias e urina; a energia líquida representa a energia metabolizável corrigida pelas perdas no incremento calórico (Lovell, 1998).

As perdas devido ao incremento calórico ocorrem pela ingestão do alimento e por perda calórica de manutenção (metabolismo basal, atividades voluntárias e involuntárias e regulação térmica) (NRC, 1993). Assim, a energia líquida representa a energia recuperada na forma de produtos animais, na forma de crescimento, gordura e reprodução (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004).

A energia dietética é dependente de vários compostos provenientes dos alimentos componentes das dietas. Tais componentes como as proteínas, lipídios e carboidratos apresentam valores médios de calor de combustão ou, energia bruta, de 5,64; 9,44 e 4,11 kcal.g⁻¹, respectivamente (NRC, 1993). Isto implica no conhecimento prévio à formulação das rações, da biodisponibilidade energética dos alimentos.

Apesar do uso de coeficientes de disponibilidade de energia, baseados em energia metabolizável serem mais precisos para a formulação de rações, estes oferecem poucas vantagens aos de energia digestível. Isto se deve às perdas de energia pelas fezes serem a principal forma de perdas, além de apresentarem variações entre dietas e espécies, o que não ocorre com as perdas de energia pelas brânquias e urina (NRC, 1993).

As proteínas e lipídios são os principais alimentos energéticos em dietas de peixes, basicamente devido ao ambiente aquático apresentar – se escasso em relação aos carboidratos alimentares naturais. Conseqüentemente, a maioria das espécies de peixes se adaptou a utilizar estes nutrientes como grandes fontes de energia (Lovell, 1998). Algumas espécies como o bagre do canal, as carpas e/ou os pacus podem utilizar os carboidratos, especialmente aqueles provenientes do amido, melhor que espécies de peixes de águas frias. Os fatores que contribuem para esta utilização do amido podem ser a melhor digestão de amido em águas quentes e notadamente a maior atividade

enzimática gástrica para esta função, em algumas espécies como o matrinhã (Pezzato et al., 2004).

As tilápias aproveitam bem os carboidratos e as gorduras como fonte de energia, o que permite a economia de proteínas dietética para o crescimento (Kubitza, 2000) ou reprodução. Neste sentido, o adequado balanço entre energia e proteína em uma ração completa para peixes é importante para maximizar a eficiência alimentar. Pois, um desbalanço positivo desta relação leva ao acúmulo de gordura visceral, enquanto o contrário leva ao uso de proteína dietética como fonte de energia, prejudicando assim o desempenho animal (NRC, 1993; Kubitza, 2000).

As exigências de energia digestível para garantir o máximo desempenho zootécnico variam entre espécies (Pezzato et al., 2004) e também entre as fases de cultivo. A formulação de rações baseadas na energia digestível dos nutrientes é um procedimento recomendado pela maioria dos nutricionistas. Contudo, poucas são as informações existentes sobre a energia digestível dos ingredientes para cada espécie de peixe (Pezzato et al., 2004) e para as fases de cultivo.

Nos últimos anos, estudos direcionados às diversas espécies de peixes de importância comercial, especialmente as tilápias, têm proporcionado um amplo conhecimento no que diz respeito aos coeficientes de digestibilidade de diferentes nutrientes. Dentre vários, pode-se comentar a digestibilidade da energia de alimentos energéticos e protéicos (NRC, 1993, Boscolo et al., 2002).

Pesquisas como estas, permitiram o estudo dos níveis de exigência de energia em diferentes fases de criação. A exemplo disso, recente estudo evidenciou efeito linear negativo com níveis crescentes de energia dietética a partir de 3300 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ (85,49 mg de proteína digestível.kcal de energia digestível) para a tilápia-do-Nilo durante a reversão sexual (Boscolo et al., 2005).

Outros trabalhos sugerem níveis de 75 mg e 120 mg de proteína.kcal de energia digestível⁻¹ para cultivo de tilápias durante a reversão sexual em água salgada (2,9 g de peso vivo) e doce (1,7 g de peso vivo), respectivamente (Bhujel, 2000) e, níveis de 2.900 kcal.kg⁻¹ de ração para tilápias de 50 g (NRC, 1993; Lovell, 1998).

Kubitza (2000) sugere o uso de dietas completas para reprodutores de tilápia que atendam os níveis de 28 a 32% de proteína bruta e 2.800 a 3.200 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ e/ou, 32 a 40% proteína bruta e 3.200 a 3.600 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹, para sistemas de cultivo contendo plâncton e “raceways”, respectivamente.

As informações mais precisas quanto às exigências de energia digestível para dietas de reprodutores de tilápia-do-Nilo ainda são inexistentes Bhujel (2000), fato este que sugere a condução de estudos nesta linha.

1.4 – Lipídios como fonte de energia metabólica para os reprodutores, os embriões e as proles

O primeiro requisito para o sucesso na nutrição de reprodutores é o fornecimento suficiente de lipídios na dieta para suprir as necessidades energéticas para a reprodução e composição lipídica presente nos ovos, especialmente, durante os estágios iniciais da gametogênese (Sargent, 1995).

Aspectos quantitativos e qualitativos destas fontes lipídicas devem ser considerados, especialmente por serem uma importante fonte de energia metabólica para a formação das gônadas e embriogênese (Tyler & Sumpter, 1996) e ainda fonte de ácidos graxos.

De modo geral, ácidos graxos saturados (El-Sayed et al., 2005) e monoinsaturados de cadeia longa, especialmente as formas 20:1 e 22:1, são largamente catabolizados para a formação de energia necessária para a gametogênese (Sargent, 1995).

Durante o processo da gametogênese, os tecidos adiposo e muscular são os de maior importância para que aminoácidos e ácidos graxos sejam transformados pelo fígado, em lipídios e proteínas para os ovócitos (Wiegand, 1996). Este processo implica em uma intensa proliferação e expansão do retículo endoplasmático no fígado, onde ocorre a biossíntese da vitelogenina, o que requer grandes quantidades de energia metabólica (Sargent, 1995).

A composição da vitelogenina apresenta variações entre espécies, onde 19 a 22% são lipídios e o restante proteínas, sendo que da porção lipídica, 60% ou mais, dependendo da espécie, é composto por fosfolipídios e o restante por triacilgliceróis (Wiegand, 1996).

A priori, espera-se que os triacilgliceróis ou lipídios neutros sejam consumidos como a principal fonte de energia metabólica nos estágios iniciais de desenvolvimento (Wiegand, 1996). Quanto aos fosfolipídios ou lipídios polares, ricos em ácidos graxos essenciais da série n-3, espera-se que sejam conservados para a formação de novos tecidos em embriões e larvas (Sargent, 1995).

Outros estudos sugerem que aminoácidos livres também sejam utilizados como fonte primária de energia para o desenvolvimento embrionário em larvas de peixes marinhos (Ronnestad et al., 1992; Ronnestad et al., 1993; Ronnestad et al., 1994). Contudo, ao menos em espécies de peixes marinhos, parece existir uma certa preferência pela utilização da fosfatidilcolina pelos ovos/embriões em desenvolvimento, implicando no relativo catabolismo de ácidos graxos essenciais (n-3 PUFA) (Sargent, 1995).

Como o ovo em desenvolvimento é um sistema fechado, a mobilização de fosfatidilcolina pode gerar elevados níveis internos de fosfato inorgânico e colina (Sargent, 1995). Apesar destas vias metabólicas não serem completamente compreendidas, apresentam relevância na nutrição de reprodutores devido à importância da síntese destes compostos pelo organismo materno e a relação existente com o metabolismo da metionina (Sargent, 1995).

A metionina é um importante fornecedor de grupos metil na biossíntese da colina e, portanto, se relaciona às formas de produção da vitelogenina com às dietas lipídicas e protéicas dos reprodutores (Sargent, 1995).

O consumo de fosfolipídios, durante a embriogênese, sugere que os estoques de lipídios neutros do organismo atuem como um reservatório para a disponibilização de ácidos graxos essenciais, durante o vantajoso catabolismo de fosfolipídios, que permite a provisão de fosfato e colina para a síntese de macromoléculas e neurotransmissores, bem como para o metabolismo intermediário (Wiegand, 1996).

1.5 – Nutrição e endocrinologia de reprodutores

A limitação da qualidade ou quantidade do alimento pode induzir à absorção de ovócitos vitelogênicos, resultando em menor número de ovócitos maduros ou podendo ainda atuar em alguma fase metabólica anterior, impedindo o início da vitelogênese (Harvey & Carolsfeld, 1993; Zaniboni-Filho & Nuñez, 2004).

Os efeitos negativos da nutrição inadequada dos peixes, sobre o processo reprodutivo, podem ocorrer em função da influência do desbalanço de nutrientes sobre o sistema endócrino do eixo hipotálamo – hipófise – gônadas ou pela restrição de componentes bioquímicos responsáveis pela ovulogênese e espermatogênese (Izquierdo et al., 2001).

A dieta fornecida aos reprodutores pode influenciar o processo reprodutivo, não somente no que se refere à composição dos ovos, mas também por meio de disfunções das vias hormonais que interferem na reprodução (Navas et al., 1998). Kah et al. (1994) verificaram alterações na liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) durante a estação reprodutiva, em função de dietas com reduzidas relações proteína:carboidrato.

Navas et al. (1998) verificaram que o perfil de ácidos graxos dietéticos em reprodutores de “sea bass” causaram alterações sobre o desempenho reprodutivo e dos níveis plasmáticos de estradiol, vitelogenina e do hormônio gonadotrófico II (GtH II).

A influência das dietas sobre os eventos reprodutivos como a puberdade, nos mamíferos, foram descritos por Ferrell (1991). O autor sugere que tais fatores podem levar a alterações das funções endócrinas relacionadas a sensibilidade do hipotálamo e da pituitária ao “feedback” negativo dos esteróides sexuais, sobre a produção e a liberação de gonadotrofinas. Apesar de os mecanismos responsáveis por tais alterações serem desconhecidos, Ferrell (1991) sugere que os esteróides sexuais podem ser metabolizados oxidativamente no fígado por enzimas oxidativas. Isto pode ser potencializado pelos altos índices de ingestão de energia e/ou proteínas dietéticas, pois, estas dietas podem promover o aumento das concentrações destas enzimas, ao aumento do tamanho do fígado e a maximização das taxas metabólicas. O desbalanço dietético de aminoácidos precursores dos peptídeos neurotransmissores, também pode resultar na alteração dos hormônios liberadores de gonadotrofinas (GnRH). Especificamente para os machos, baixos níveis de energia dietética podem levar a redução da resposta dos testículos às gonadotrofinas.

Os ácidos graxos presentes nas dietas também exercem influência sobre a endocrinologia reprodutiva. Mensageiros utilizados pelo GnRH para estimular a liberação dos hormônios gonadotróficos (GtH) são a fosfolipase A2 (PLA₂) e o ácido araquidônico (AA) (Bombardelli et al., 2006), especialmente pela mobilização e metabolismo do AA pela PLA₂ e subsequente produção de metabólitos importantes na ação do GnRH em tilápias (Van Der Kraak et al., 1997).

1.6 – Lipídios como precursores de hormônios

Lipídios como o ácido graxo poliinsaturado de 20 carbonos, o ácido araquidônico, 20:4($\Delta^{5, 8, 11, 14}$) n-6, são precursores de hormônios como os eicosanóides, que estão envolvidos em diversas funções bioquímicas e fisiológicas. Tais funções seriam os processos inflamatórios, da dor, da resposta ao estresse, da liberação gástrica de ácidos e, especialmente neste caso, na reprodução dos vertebrados, por servir como precursor metabólico das diversas formas de prostaglandinas (Sargent, 1995; Nelson & Cox, 2002).

As prostaglandinas são importantes na reprodução de peixes, pois estão envolvidas no processo de ruptura folicular e estimulam o comportamento de desova em fêmeas (Baldisseroto, 2002).

Os ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) da série n-3, principalmente o ácido eicosapentaenóico 20:5 (n-3) têm importante função fisiológica na modulação da produção de eicosanóides a partir do ácido araquidônico 20:4 (n-6). Esta modulação se deve ao ácido eicosapentaenóico competir negativamente com o sistema de enzimas responsável por reações (Figura 1) como aquelas envolvidas na produção das prostaglandinas da série 2 (Sargent, 1995). Estas prostaglandinas apresentam importância, pois, provavelmente estão envolvidas nos processos da embriogênese, da eclosão dos ovos e desenvolvimento larval (Bell et al., 1997).

Considerando-se que os eicosanóides produzidos a partir do 20:4 (n-6) são biologicamente ativos em peixes, Sargent (1995) acredita que estes PUFAs (n-6) são nutrientes essenciais para peixes.

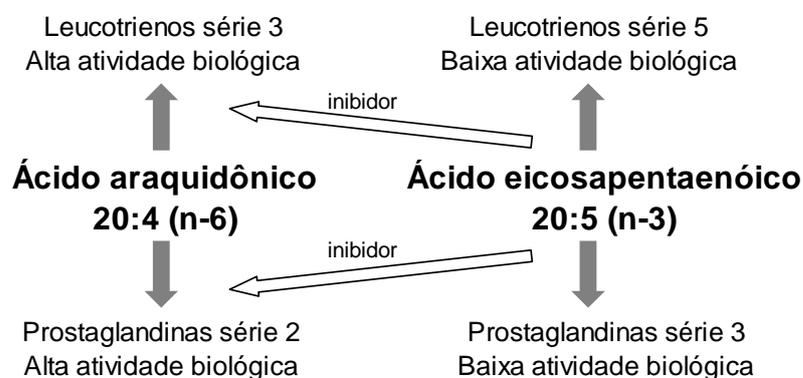


Figura 1 – Interações do ácido araquidônico e do ácido eicosapentaenóico na produção de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos). Adaptado de Sargent (1995).

Muito tem se discutido a respeito da relação entre n-6/n-3 a ser utilizada em dietas de peixes (Mazorra et al., 2003), uma vez que, experimentos utilizando elevadas relações positivas entre estes ácidos graxos levam a desordens fisiológicas, em respostas ao estresse dos animais. Ainda, estudos têm verificado a correlação da secreção de cortisol e os níveis de ácido araquidônico, em situações de estresse (Koven et al., 2001).

Bell et al. (1997) sugerem a formulação de dietas para reprodutores de peixes em que relações ácidos docosahexaenoico/eicosapentaenóico sejam maiores que 1 e araquidônico/eicosapentaenóico sejam menores que 0,3.

Estudos têm demonstrado que larvas de “turbot” alimentadas com dietas à base de rotíferos e artemia enriquecidos com 15% de ácido araquidônico induziram os animais ao estresse e a pigmentação deficiente (Estevez et al., 1999).

Por outro lado, Mazorra et al. (2003) verificaram efeitos benéficos no desempenho reprodutivo, qualidade dos ovos e sobrevivência das larvas de “atlantic halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*), quando a dieta dos reprodutores foi enriquecida com ácido araquidônico. Isto sugere que os efeitos do ácido araquidônico durante a maturação gonadal, o desenvolvimento embrionário e larval e demais formas jovens, atue de forma diferenciada em cada fase do ciclo de vida.

A presença de atividade da fosfolipase A2, em escala diretamente proporcional com a idade dos animais a partir da fertilização, sugere que o ácido araquidônico removido da fosfatidil etonolamina poderia servir como precursor para a biossíntese de prostaglandinas da série 2 (PG2), a qual desempenha importante papel para o desenvolvimento embrionário (Evans et al., 1998).

Dietas super suplementadas com óleo vegetal, ricos em 18:2(n-6), podem limitar a produção e ação das prostaglandinas da série 3, as quais são as principais responsáveis pela ovulação (Sargent, 1995).

Como a esteroidogênese e os eicosanóides são essenciais para a manutenção das funções testiculares, é possível que ao contrário do que já foi relatado para as fêmeas, alterações nas relações entre ácidos graxos poliinsaturados dietéticos n-3:n-6, em função do aumento do ácido araquidônico, podem melhorar o desempenho reprodutivo de machos de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) (Asturiano et al., 2001). Isto sugere que os requerimentos dietéticos de PUFAs para machos reprodutores sejam diferentes que para as fêmeas.

A composição das dietas exercem importante papel sobre o processo reprodutivo, onde os teores de lipídios e a sua composição em termos de ácidos graxos, exercem

maior influência sobre a síntese de esteróides gonadais, que o conteúdo de proteínas presente na dieta dos reprodutores (Cerdà et al., 1997).

1.7 – Efeitos de lipídios em dietas de reprodutores sobre a qualidade dos gametas, embriões e das proles de peixes

Dentre vários fatores que influenciam a qualidade dos gametas, a dieta dos reprodutores apresenta grande importância, especialmente no que diz respeito ao conteúdo de lipídios dietéticos. Estes nutrientes são largamente estudados por influenciarem a qualidade e viabilidade dos gametas (Brook et al., 1997), embriões e larvas (Navas et al., 1998).

Os lipídios dietéticos fornecidos aos reprodutores de peixes, além de atender as necessidades dos próprios animais, servem como fonte de nutrientes para os gametas e embriões (Izquierdo et al., 2001).

Os lipídios são incorporados ao vitelo a partir de fonte dietética fornecida durante a vitelogênese ou de reservas corporais que foram estocadas antes da vitelogênese e, subsequentemente, mobilizadas para este fim (Wiegand, 1996). Isto leva a uma necessidade nutricional mais elevada, especialmente de ácidos graxos essenciais, para os reprodutores em atividade reprodutiva que para animais em crescimento normal (Furuita et al., 2000).

Alguns autores sugerem que a composição bioquímica dos ovócitos/ovos pode servir como parâmetro de mensuração da sua qualidade, por refletir a demanda nutricional necessária para o crescimento embrionário e larval (Lavens et al., 1999). Da mesma forma, a qualidade das larvas, o tamanho dos ovos e das larvas estão relacionados às melhores taxas de sobrevivências dos animais ao longo de períodos sem alimento, importante durante as fases iniciais de desenvolvimento (MacIntosh & Little, 1995; Lavens et al., 1999).

As necessidades nutricionais de ácidos graxos essenciais dos reprodutores de peixes e seus efeitos sobre a qualidade das proles têm sido foco de grande interesse por diversos pesquisadores.

Ácidos graxos do tipo $n - 3$ HUFA, especialmente o ácido docosaenoico 22:6 $n-3$ (DHA), apresentam diversas funções de importância em peixes, como a manutenção da estrutura e integridade funcional das células (Furuita et al., 2000). Tais

funções estariam especialmente relacionadas às membranas celulares de tecidos neurais (Wiegand, 1996) como no cérebro e nos olhos (Sargent, 1995). Estes tecidos representam grandes proporções de massa corporal de embriões e larvas (Sargent, 1995), o que se reflete nos elevados requerimentos do ácido docosaexaenóico para garantir o adequado desenvolvimento visual e neural das formas jovens.

Wiegand (1996) sugerem que os elevados níveis de ácido docosaexaenóico nos fosfolípidios da retina, são requeridos para proporcionar uma adequada matriz para a função da rodopsina sobre uma amplitude de temperaturas ambientais, essencial para o comportamento predatório larval.

Segundo Sargent (1995), a deficiência ou ainda níveis nutricionais sub ótimos do ácido docosaexaenóico, nas dietas de reprodutores de peixes, pode levar a falta deste ácido graxo durante o desenvolvimento embrionário e larval. Conseqüentemente, segundo estes autores, o referido evento levaria a redução da qualidade dos ovos e larvas, a ponto de influenciar o comportamento predatório larval, devido a má formação do sistema visual. Se tais anormalidades ocorrerem em virtude da desnutrição severa, podem levar a morte em casos extremos. Contudo, quadros de sub anormalidade ocorridas devido às situações de desnutrição não tão severas podem persistir ao longo de toda a vida do animal.

Em “Japanese flounder” (*Paralichthys olivaceus*), a suplementação de $n - 3$ HUFA em níveis crescentes (0,42%, 0,81% e 2,11%), na dieta dos reprodutores, mostrou relação direta na melhora da qualidade dos ovos e larvas, no que se refere à composição química dos ovos, ao percentual de larvas normais, sobrevivência das larvas e resistência das larvas ao jejum (Furuita et al., 2000). Este estudo também evidenciou que os grupos tratados com dietas apresentando menor quantidade de $n - 3$ HUFA, apresentaram maior deposição de ácidos graxos do tipo $n - 6$ HUFA nos ovos. O contrário foi evidenciado para grupos tratados com elevados níveis de $n - 3$ HUFA. Assim, estes autores sugerem que ácidos graxos do grupo $n - 6$ HUFA podem apresentar efeito negativo para a qualidade de ovos e larvas do *Paralichthys olivaceus*, exceto para o ácido araquidônico (AA – 20:4 $n - 6$).

O uso de dietas enriquecidas com ácido araquidônico não apresenta efeito sobre a fecundidade do “atlantic halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*), mas promove efeitos benéficos devido a melhora nas taxas de fertilização, no desenvolvimento embrionário, taxas de eclosão e sobrevivência de larvas (Mazorra et al., 2003). Os mesmos autores também verificaram, em dois experimentos consecutivos, que apesar da suplementação

dietética dos reprodutores com diferentes níveis do ácido docosahexaenóico, seus níveis presentes nos ovócitos, liberados durante a reprodução, permaneceram inalterados. Isto sugere a existência de um processo de acumulação seletiva do ácido docosahexaenóico nestes gametas (Mazorra et al., 2003).

Lavens et al. (1999) também pesquisaram os efeitos de dietas fornecidas para reprodutores de “turbot” (*Scophthalmus maximus*), enriquecidas com HUFAs e verificaram efeitos sobre a qualidade dos ovos e das larvas. Quanto aos ovos produzidos pelos reprodutores alimentados com dietas suplementadas com HUFAs, verificou-se aumento dos teores de matéria seca, do diâmetro dos ovócitos, da presença de glóbulos de gordura e melhoras nas taxas de fertilização. Quanto as larvas, as dietas geraram um aumento no tamanho do saco vitelínico.

Estudos com óleo de origem vegetal também têm sido realizados a fim de se verificar os efeitos sobre parâmetros reprodutivos de peixes. Ballestrazzi et al. (2003) pesquisaram a inclusão de óleo de amendoim na dieta de reprodutores de truta arco – íris (*Onchorhynchus mykiss*) e não verificaram efeito dos tratamentos sobre o diâmetro dos ovócitos. Mas, verificaram efeito sobre o perfil de alguns ácidos graxos presentes nos ovócitos em conformidade com as dietas, como o aumento das concentrações dos saturados. Estes autores também evidenciaram a conservação das concentrações do ácido docosahexaenóico nos ovócitos, independentemente das dietas, sugerindo também a existência de um mecanismo seletivo de deposição deste ácido graxo. De forma semelhante, El-Sayed et al. (2005) estudaram os efeitos de diferentes fontes de óleo em dietas de reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Após o uso do óleo de soja, de peixe e a mistura entre eles em rações de reprodutores cultivados em água doce, estes autores constataram que as fontes de óleo não causam efeito sobre o diâmetro e composição química dos ovos, sobre as taxas de eclosão e o peso das larvas.

O principal foco dos trabalhos envolvendo nutrição de reprodutores de peixes é voltado para os efeitos das dietas sobre as fêmeas e as proles e, pouca atenção tem sido dada para os efeitos exercidos sobre os machos (Cerdà et al., 1997).

Cerdà et al. (1997), testando dietas para reprodutores de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) contendo diferentes níveis e composições de lipídios, sugerem que estes fatores podem influenciar a concentração e a motilidade espermática.

Asturiano et al. (2001) também estudaram os efeitos de dietas enriquecidas com PUFAs em machos de “sea bass” e, verificaram que, a suplementação destes ácidos graxos promovem melhora na qualidade do sêmen durante o período de pico da

reprodução. As melhoras verificadas são em termos de aumento no percentual de machos em espermição, do volume de sêmen liberado, da concentração, da motilidade e do tempo de ativação espermática, além das taxas de fertilização dos ovócitos. Estas dietas levaram ao aumento das concentrações de ácido araquidônico no sêmen, possivelmente pela síntese *de novo* deste mesmo ácido graxo a partir de seu precursor metabólico presente na dieta, o ácido graxo linoléico (18:2 n-6). De forma semelhante às fêmeas, a deposição de DHA no sêmen também parece exercer mecanismos seletivos, independente da dieta (Asturiano et al., 2001).

De modo geral, Asturiano et al. (2001) sugerem que devido a importância da esteroidogênese e dos eicosanóides nas funções testiculares, é possível que ao contrário das fêmeas, a redução dos níveis dietéticos de PUFAs da série n-3 e o aumento do ácido araquidônico, altera a relação n-3:n-6 e pode melhorar o desempenho reprodutivo dos machos de “sea bass”.

1.8 – Literatura citada

- ALCESTE, C.; JORRY, D.E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p. 349-364.
- AL-HAFEDH, Y.S.; SIDDIQUI, A.Q.; AL-SAIADY, M.Y. Effects of dietary protein levels on gonad maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile tilapia. **Aquaculture International**, v.7, p.319–332, 1999.
- ALMANSA, E.; PÉRZ, M.J.; CEJAS, J.R. et al. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. **Aquaculture**, v.170, p.323–336, 1999.
- ASTURIANO, J.F.; SORBERA, L.A.; CARRILO, M. et al. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA – enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. **Aquaculture**, v.194, p.173–190, 2001.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 211p.
- BALLESTRAZZI, R.; RAINIS, S.; TULLI, F. et al. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v.11, p.289–299, 2003.
- BELL, J.G.; FARNDAL, B.M.; BRUCE, M.P. et al. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid composition of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.149, p.107–119, 1997.
- BERNTSSON, K.M.; JONSSON, P.R.; WÄNGBERG, S.A. et al. Effects of broodstock diets on fatty acid composition, survival and growth rates in larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. **Aquaculture**, v.154, p.139–153, 1997.
- BHUJEL, R. C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. **Aquaculture**, v.181, p.37–59, 2000.
- BILLARD, R.; COSSON, J.; CRIM, L.W. et al. Sperm physiology and quality. In: BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.25–52.
- BOMBARDELLI, R.A.; MEURER, F.; SYPPERRECK, M.A. Metabolismo protéico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.7, n.1, p.69–79, 2004.
- BOMBARDELLI, R.A.; SYPPERRECK, M.A.; SANCHES, E.A. Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.9, n.1, p.59-65, 2006.
- BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. **AQUICULTURA – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003. 128p.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para o tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.

- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. et al. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1391-1396, 2001.
- BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.; FEIDEN, A. et al. Energia digestível para larvas de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1813-1818, 2005.
- BROMAGE, N. Broodstock management and seed quality – general considerations. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.1–25.
- BROOKS, S.; TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.287–416, 1997.
- CERDÀ, J.; ZANUY, S.; CARRILO, M. Evidence for dietary effects on plasma levels of sexual steroids during spermatogenesis in the sea bass. **Aquaculture International**, v.5, p.473–477, 1997.
- CHO, C.Y. Feeding for rainbow trout and other salmonids, with reference to current estimates of energy and protein requirement. **Aquaculture**, v.100, p.107–123, 1992.
- CRESCÊNCIO, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. p.23–36.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619–632, 2003.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187–196, 2005.
- EL-SAYED, A.F.M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v.179, p.149-168, 1999.
- EMATA, A.C.; BORLONGAN, I.G.; DAMASO, J.P. Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. **Aquaculture Research**, v.31, p.557–564, 2000.
- ESTEVEZ, A.; MCEVOY, L.A.; BELL, J.G. et al. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot *Scophthalmus maximus* larvae fed live-prey enriched in Arachidonic and Eicosapentaenoic acids. **Aquaculture**, v.180, p.321–343, 1999.
- EVANS, R.P.; PARRISH, C.C.; BROWN, J.A. et al. Changes in phospholipase (A2) activity and lipid content during early development of “atlantic halibut”, *Hippoglossus hippoglossus*. **Marine Biology**, v.130, p.369–376, 1998.
- FERRELL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In: CUPPS, P.T. (Ed.) **Reproduction in domestic animals**. 4.ed. London: Academic Press, 1991. p.577-604.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAO FishStat plus. Aquaculture Production 1970–2002**. Rome: FAO, 2004. (CD-ROOM).
- FURUITA, H.; TANAKA, H.; YAMAMOTO, T. et al. Effects of high dose of vitamin A on reproduction and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, v.67, p.606–613, 2001.
- FURUITA, H.; TANAKA, H.; YAMAMOTO, T. et al. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v.187, p.387–398, 2000.

- FURUITA, H.; TANAKA, H.; YAMAMOTO, T. et al. Supplemental effects of vitamin A in diet on the reproductive performance and egg quality of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture Research**, v. 34, p.461–467, 2003.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Effects of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.134, p.169–183, 1995.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.146, p.245–259, 1996.
- GURGEL, J.J.S. Observations on the stocking of *Sarotherodon niloticus* (LINNE, 1766) into D.N.O.C.S. public reservoirs of northeast Brazil. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v.35, p.53–58, 1983.
- HARVEY, B.; CAROSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: International Development Research Centre, 1993. 144p.
- HAYASHI, C. Breves considerações sobre as tilápias. In: RIBEIRO, R.P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W.M. (Ed.) **Curso de piscicultura: criação racional de tilápias**. Maringá: EDUEM, 1995. p. 4.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Estatística da Pesca 2005 Brasil – Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Brasília: IBAMA, 2007. 108p.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p.25–42, 2001.
- KAH, O.; ZAMUY, S.; PRADELLES, P. et al. An enzyme immunoassay for salmon gonadotropin – releasing hormone and its application to the study of the effects of diet on brain and pituitary in the sea bass *Dicentrarchus labrax*. **General Comparative Endocrinology**, v.95, p.464–474, 1994.
- KOVEN, W.; BARR, Y.; LUTZKY, S. et al. The effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture**, v.193, p.107-122, 2001.
- KUBITZA, F. **TILAPIA – Tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Divisão de biblioteca e documentação, 2000. 289p.
- LAHAV,E.; RA’NAN, Z. Salinity tolerance of genetically produced tilapia (*Oreochromis*) hybrids. **The Israel Journal of Aquaculture**, v.49, n.3, p.160-165, 1997.
- LAVENS, P.; LEBEGUE, E.; JAUNET, H. et al. Effects of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. **Aquaculture International**, v.7, p.225–240, 1999.
- LAZARD, J; ROGNON, X. Genetic diversity of tilapia and aquaculture development in Côte D’Ivoire and Niger. **The Israel Journal of Aquaculture**, v.49, n.2, p.90-98, 1997.
- LEE, K.; RINCHARD, J.; DABROWSKI, K. et al. Long-term effects of dietary cottonseed meal on growth and reproductive performance of rainbow trout: three-year study. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p.93–106, 2006.
- LEE, K; DABROWSKI, K. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. **Aquaculture**, v.230, p.377–389, 2004.
- LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. London: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267p.

- LOVSHIN, L.L. Modelos de desenvolvimento em piscicultura: as experiências asiática e norte-americana. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1997. p.31-44.
- LOVSHIN, L.L. Red tilapia or Nile tilapia: Which is the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1998. p.179-198.
- LOVSHIN, L.L.; CYRINO, J.E.P. Status of commercial fresh water fish culture in Brazil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1998. p.1-20.
- MACINTOSCH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.277-320.
- MAZORRA, C.; BRUCE, M.; BELL, J.G. et al. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v.227, p.21-33, 2003.
- MCANDREW, B.J. Evolution, phylogenetic relationships and biogeography. In: BEVERIDGE, M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **Tilapias: Biology and exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.1-32.
- MEURER, F. HAYASHI, C.; SOARES, C.M. et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia/Brazilian Journal of Animal Science**, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirement of Fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 115p.
- NAVAS, J.M.; MAÑANÓS, E.; TRUSH, M. et al. Effects of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**, v.165, p.65-79, 1998.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: Princípios de bioquímica**. 3^a ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 687p.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. (Ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p.75-170.
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p.127-145.
- RONNESTAD, I.; FYHN, H.J.; GRAVNINGEN, K. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). **Marine Biology**, v.114, n.4, p.517-525, 1992.
- RONNESTAD, I.; GROOT, E.P.; FYHN, H.J. Compartmental distribution of free amino acids and protein in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Marine Biology**, v.116, n.3, p.349-354, 1993.
- RONNESTAD, I.; KOVEN, W.M.; TANDLER, A. et al. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Marine Biology**, v.120, n.2, p.187-196, 1994.
- SALARO, A.L.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Desempenho e espermatogênese de alevinos de tilápia alimentados com farelo ou farinha de semente de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.449-457, 1999.

- SANDNES, K.; ULGENES, Y.; BRAEKKAN, O.R et al. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction on Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**, v.43, p.167–177, 1984.
- SANTIAGO, C.B.; ALDABA, M.B.; LARON, M.A. et al. Reproductive performance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock fed diets containing *Leucaena leucocephala* leaf meal. **Aquaculture**, v.70, p.53–61, 1988.
- SANTIAGO, C.B.; GONZA, A.C. Effects of prepared diet and vitamins A, E and C supplementation on reproductive performance of cage-reared bighead carp *Aristichthys nobilis* (Richardson). **Journal Applied Ichthyology**, v.16, p.8–13, 2000.
- SANTIAGO, C.B.; LARON, M.A. Growth and fry production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), on different feeding schedules. **Aquaculture Research**, v.33, p.129–136, 2002.
- SARGENT, J.R. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.353–372.
- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HAFEDH, Y.S.; ALI, S.A. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v.29, p.349–358, 1998.
- SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). **Aquaculture**, v.59, p.197–208, 1986.
- SPRINGATE, J.R.C.; BROMAGE, N.R.; CUMARANATUNGA, P.R.T. The effects of different ration on fecundity and egg quality in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). In: COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. (Ed.) **Nutrition and Feeding in Fish**. London: Academic Press, 1985. p.371-394.
- TEROVA, G.; SAROGLIA, M.; PAPP, Z.G. et al. Dynamics of collagen indicating amino acids, in embryos and larvae of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*), originated from broodstock fed with different vitamin C content in diet. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.12, p.111–118, 1998.
- TURNER, G.F.; ROBINSON, R.L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **Tilapias: Biology and Exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.33–58.
- TVERANGER, B. Effects of pigment content in broodstock diet on subsequent fertilization rate, survival and growth rate of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) offspring. **Aquaculture**, v.53, p.8–93, 1986.
- TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Oocyte growth and development in teleosts. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, p.287–318, 1996.
- VAN DER KRAAK, G.; CHANG, J.P.; JANZ, D.M. Reproduction. In: EVANS, D.H. (Ed.) **The Physiology of Fishes**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1997. p.465–490.
- VASSALO-AGIUS, R.; IMAIZUMI, H.; WATANABE, T. et al. The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. **Fisheries Science**, v.67, p.260–270, 2001b.
- VASSALO-AGIUS, R.; WATANABE, T.; SATOH, S. et al. Supplementation of paprika as a carotenoid source in soft-dry pellets for broodstock yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Termminck & Schlegel). **Aquaculture Research**, v.32, n.1, p.263–272, 2001c.
- VASSALO-AGIUS, R.; WATANABE, T.; YOSHIZAKI, G. et al. Quality of eggs and spermatozoa of Rainbow trout fed an n-3essential fatty acid-deficient diet and its

- effects o the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. **Fisheries Science**, v.67, p.818–827, 2001a.
- WATANABE, T. Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In: COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. (Ed.) **Nutrition and Feeding in Fish**. London: Academic Press, 1985. p.395–414.
- WATANABE, T.; KIRON, V. Prospects in larval fish dietetics. **Aquaculture**, v.124, p.223–251, 1994.
- WATANABE, T.; VASSALO-AGIUS, R. Broodstock nutrition research on marine finfish in japan. **Aquaculture**, v.227, p.35–61, 2003.
- WATANABE, W.O.; LOSORDO, T.M.; FITZSIMMONS, K. et al. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trends and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v.10, n.3, p.465–498, 2002.
- WIEGAND, M.D. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, p.259–286, 1996.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **Propagação artificial de peixes de águas tropicais – Manual de Extensão**. Brasília: FAO/CODEVASP/CNPq, 1983. 225p.
- ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Reprodução de peixes migradores de água doce. In: CYRINO, J.E.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. (Ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p.45–74.

II – OBJETIVOS GERAIS

O trabalho foi conduzido com o objetivo de estudar os efeitos da alimentação em fêmeas e machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, por meio da inclusão de óleo de soja, sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e também a deposição de lipídios no tecido hepático.

III – Energia digestível a partir da inclusão do óleo de soja em rações para fêmeas de tilápia-do-Nilo: desempenho reprodutivo, zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos

RESUMO: O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar os desempenhos reprodutivo e zootécnico, além da deposição de lipídios no tecido hepático de fêmeas de tilápia-do-Nilo, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, obtidos pela inclusão do óleo de soja. Foram utilizados 400 reprodutores, sendo 300 fêmeas e 100 machos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os reprodutores foram alimentados com rações contendo 35% de proteína bruta e 2.700, 2.950, 3.200, 3.450 e 3.700 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ e, submetidas ao manejo reprodutivo em “hapas” por 93 dias. Os parâmetros de desempenho reprodutivo e zootécnico não foram influenciados pelos níveis energéticos das rações (P>0,05), o que podem estar associados ao curto período de tempo em que os reprodutores foram alimentados com as rações experimentais, ou até mesmo, pela possível redução dos níveis de ácidos graxos n-3 nas rações. Contudo, os tratamentos causaram um aumento linear (P<0,05) das inclusões lipídicas nos hepatócitos. Desta forma, os níveis crescentes de energia digestível nas rações fornecidas às fêmeas de tilápia-do-Nilo, obtidos pela inclusão do óleo de soja, apenas promoveram o aumento da deposição de lipídeos no hepatócitos.

Palavras-chave: fígado, nutrição, *Oreochromis niloticus*, ovários, peixe, reprodução

III- Digestible energy from the soybean oil inclusion in rations of the Nile tilapia females: reproductive and zootechnical performance and lipids deposition in hepatocytes

ABSTRACT: The experiment was carried out to evaluate the reproductive and zootechnical performance, and the lipids deposition in the liver tissue of the Nile Tilapia female, fed with diets containing different levels of digestible energy, obtained by the soybean oil inclusion. There were used 400 breeding, being 300 females and 100 males, distributed in a completely randomized design composed of five treatments and four replications. The breeding were fed with diets containing 35% of crude protein and 2,700, 2,950, 3,200, 3,450 and 3,700 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹, and submitted to the hapas reproductive management by 93 days. The reproductive performance and zootechnical parameters were not influenced by diets energy levels ($P>0.05$), which may be associated with the short period of time that the breeding were fed with the experimental diets, or even the possible reduction of n-3 fatty acids levels in the diet. However, the treatments caused a linear increase ($P<0.05$) of the lipidics inclusions in hepatocytes. Thus, the increasing levels of digestible energy in rations provided to the Nile tilapia females, obtained by the soybean oil inclusion, only promoted the increase of lipids deposition in hepatocytes.

Key words: fish, liver, nutrition, *Oreochromis niloticus*, ovaries, reproduction

Introdução

A tilapicultura agrega o segundo maior grupo de peixes de água doce cultivado (Alceste & Jorry, 1998) e é uma das atividades agropecuárias de maior crescimento no mundo (Wing-Keong, 2002).

No Brasil, em 2000 e 2001 a tilapicultura seguiu a mesma tendência mundial (Borghetti et al., 2003), mas tornou-se a principal espécie cultivada nos anos de 2002, 2003 (Crescêncio, 2005) e 2005 (IBAMA, 2007).

Para atender as elevadas taxas de crescimento da tilapicultura, é de fundamental importância o fornecimento contínuo de ovos, larvas e alevinos em quantidade e qualidade (Watanabe, 1985; Little et al., 1997), dando ênfase a estudos voltados à nutrição (Watanabe et al., 2002), a alimentação e ao manejo de reprodutores (Bromage, 1995; Hardy, 1999). A nutrição afeta também o funcionamento e morfologia de órgãos como o fígado, importantes no metabolismo e fornecimento de energia (Caballero et al., 2004). Além disso, influencia o desempenho reprodutivo (Watanabe & Vassalo-Agius, 2003) e a larvicultura (Izquierdo et al., 2001).

Informações sobre nutrição de tilápias em fase de crescimento são abundantes (Santiago & Laron, 2002). Contudo, poucos são os estudos realizados com nutrição de reprodutores devido principalmente às dificuldades de condução dos experimentos (Brooks, et al., 1997; Vassalo-Agius et al., 2001).

Estudos envolvendo nutrição de reprodutores de tilápias têm sido realizados para avaliar os efeitos da proteína dietética sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas (Gunasekera et al., 1995; Gunasekera & Lam, 1997; Al-Hafedh et al., 1999) e qualidade das proles (Gunasekera et al., 1996; Gunasekera et al., 1997).

Outros nutrientes como os lipídeos têm sido estudados para reprodutores de várias espécies de peixes (Bell et al., 1997; Almansa et al., 1999; Asturiano et al., 2001). Isto se deve a sua importância como fonte de energia metabólica (Tyler & Sumpter, 1996) e de ácidos graxos de importância fisiológica, para os reprodutores e as proles (Sargent et al., 1999; Mazorra et al., 2003).

Na tilapicultura, poucas informações são disponíveis quanto às exigências energéticas para reprodutores (Bhujel, 2000).

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os desempenhos, reprodutivo e zootécnico e, a deposição de lipídios no tecido hepático de fêmeas de

tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, obtidos por meio da inclusão de óleo de soja.

Material e Métodos

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia da Reprodução dos Animais Aquáticos Cultiváveis da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), no Centro de Pesquisa em Aqüicultura Ambiental (CPAA) do Instituto Ambiental do Paraná, por meio do convênio IAP/UNIOESTE e, no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá, Paraná.

Os reprodutores foram submetidos aos manejos reprodutivo, nutricional e alimentar de 11 de janeiro a 15 de abril de 2005.

Foram utilizados 400 reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem Tai – Chitralada, dos quais 300 eram fêmeas e 100 eram machos alojados, separadamente, em 40 “hapas” (malha 1 mm X 4 mm), os quais foram distribuídos, aleatoriamente, em dois viveiros escavados (20 m X 10 m).

As fêmeas foram estocadas em 20 “hapas” de dimensões 3 m X 2 m, na densidade de 2,5 animais.m⁻², totalizando 15 fêmeas por “hapas”. Os machos foram estocados em 20 “hapas” de dimensões 2 m X 1 m, na densidade de 2,5 animais.m⁻², totalizando cinco machos por “hapas”. Este procedimento respeitou a proporção entre os sexos de 1 machos:3 fêmeas (Little & Hulata, 2000; El-Sayed et al., 2005).

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições cada. Os tratamentos foram constituídos por cinco rações contendo 35% de proteína bruta (Bhujel et al., 2001) e cinco diferentes níveis de energia digestível correspondentes a 2.700; 2.950; 3.200; 3.450 e 3.700 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹. O incremento energético das rações foi obtido pela inclusão do óleo de soja. Foi considerado como uma unidade experimental um “hapa” de 3 m X 2 m contendo 15 fêmeas e cinco machos em acasalamento.

Os reprodutores de ambos os sexos foram alimentados com rações formuladas (Tabelas 1 e 2) e processadas na forma peletizada, com peletes de 2 mm de diâmetro (Siddiqui et al., 1998). Para a elaboração das rações, os ingredientes foram triturados em

moinho de martelo, utilizando-se peneira de 0,5 mm (Hayashi et al., 1999; Meurer et al., 2005).

Tabela 1 – Composição percentual das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizadas para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.).

Table 1 – Percentage composition of the experimental ration with different digestible energy levels used to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) broodstock.

Alimentos (%) Foods (%)	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) Digestible energy (kcal.kg of ration ⁻¹)				
	2.700	2.950	3.200	3.450	3.700
Farelo de soja ^a Soybean meal	70,75	70,02	70,91	71,81	72,70
Milho ^a Corn	17,68	24,93	19,43	13,92	8,42
Óleo de soja ^a Soybean oil	0,00	0,61	5,21	9,80	14,39
Sabugo de milho Corn-cob	7,11	0,00	0,00	0,00	0,00
Fosfato bicálcico Dicalcium phosphate	1,84	1,77	1,81	1,85	1,90
Calcáreo calcítico Limestone	1,12	1,16	1,13	1,11	1,08
Suplemento min.+vit. ¹ Supplement min.+vit. ¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal comum Common salt	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Antioxidante (BHT) Antioxidant	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

^aDe acordo com os valores de digestibilidade de Boscolo et al. (2002).

^aAccording digestibility value from Boscolo et al. (2002).

¹Níveis de garantia por quilograma do produto (Rovimix peixes): Vit. A, 500.000 UI; Vit. D3, 200.000 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Ác. fólico, 500 mg; Pantotenato Ca, 4.000 mg; Vit. C, 15.000 mg; Biotina, 50 mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Colina, 40.000 mg; Co, 10 mg; Cu, 500 mg; Fe, 5.000 mg; I, 50 mg; Mn, 1500 mg; Se, 10 mg; Zn, 5.000 mg.

¹Warranty levels for kilogram of product (Rovimix fish): Vit. A, 500.000 UI; Vit. D3, 200.000 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Folic acid, 500 mg; Panthontenic calcium, 4.000 mg; Vit. C, 15.000mg; Biotin, 50 mg; Inositol, 10.000; Nicotinamide, 7.000; Choline, 40.000 mg; Co, 10 mg; Cu, 500 mg; Fe, 5.000 mg; I, 50 mg; Mn, 1500 mg; Se, 10 mg; Zn, 5.000 mg.

Os animais foram alimentados, diariamente, duas vezes ao dia (Siddiqui et al., 1998; El-Sayed et al., 2005), às 10h:00min. e às 16h:00min, com uma taxa de arraçoamento de 1% da biomassa ao dia (Bhujel, 2000). A taxa de arraçoamento foi corrigida a cada 17 dias a partir de biometrias.

Durante o período de condicionamento, machos e fêmeas foram submetidos ao manejo reprodutivo obedecendo a permanência, isolados em descanso reprodutivo, por um período de 12 dias (Tacon et al., 1996). Após este período os machos foram transferidos para os “hapas” das fêmeas para o acasalamento que teve duração de cinco dias (MacIntosh & Little, 1995).

Ao término do acasalamento foi realizada a colheita dos ovos fertilizados, de todas as fêmeas, individualmente, conforme a metodologia descrita por MacIntosh & Little (1995). Durante este procedimento, foram mensurados o peso e o comprimento

dos peixes de ambos os sexos, por meio de balança digital e ictiômetro de precisão 0,01 g e 0,1 cm, respectivamente. Em seguida, os reprodutores foram novamente separados em seus respectivos “hapas”, para novo descanso reprodutivo. Este procedimento foi repetido por 80 dias a fim de condicionar os animais ao procedimento de colheita de ovos.

Tabela 2 – Composição química das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizadas para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.).

Table 2 – Chemistry composition of the experimental ration with different digestible energy levels used to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) broodstock.

Nutrientes <i>Nutrients</i>	Energia digestível (kcal.kg ⁻¹)				
	<i>Digestible energy (kcal.kg⁻¹)</i>				
	2700	2950	3200	3450	3700
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosforo total (%) <i>Total phosphorus (%)</i>	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Cinzas (%) <i>Ash (%)</i>	8,43	8,34	8,35	8,35	8,35
Amido (%) <i>Starch (%)</i>	20,56	24,99	21,68	18,37	15,06
Fibra bruta (%) <i>Crude fiber (%)</i>	6,95	4,62	4,57	4,52	4,47
Gordura total (%) <i>Total fat (%)</i>	1,62	2,44	6,81	11,18	15,55
Energia digestível (kcal.kg ⁻¹) <i>Digestible energy (kcal.kg⁻¹)</i>	2700	2950	3200	3450	3700
Proteína digestível (%) <i>Digestible protein (%)</i>	31,12	31,33	31,31	31,30	31,28
Proteína bruta (%) <i>Crude protein (%)</i>	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
18:2 n-6	0,85	1,31	3,69	6,07	8,46
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	2,01	2,01	2,02	2,03	2,04
Metionina (%) <i>Methionine (%)</i>	0,49	0,50	0,49	0,49	0,49
Metionina + cistina (%) <i>Methionine+cystine (%)</i>	0,96	0,98	0,97	0,96	0,95
Triptofano (%) <i>Tryptophan (%)</i>	0,47	0,47	0,47	0,48	0,48
Treonina (%) <i>Threonine (%)</i>	1,32	1,33	1,33	1,32	1,32
Arginina (%) <i>Arginine (%)</i>	2,43	2,43	2,44	2,45	2,45
Glicina+serina (%) <i>Glycine+serine (%)</i>	3,28	3,31	3,30	3,30	3,30
Isoleucina (%) <i>Isoleucine (%)</i>	1,54	1,55	1,55	1,56	1,56
Valina (%) <i>Valine (%)</i>	1,58	1,59	1,59	1,59	1,58
Leucina (%) <i>Leucine (%)</i>	2,68	2,73	2,71	2,68	2,65
Histidina (%) <i>Histidine (%)</i>	0,87	0,88	0,88	0,88	0,87
Fenilalanina (%) <i>Phenylalanine (%)</i>	1,70	1,71	1,71	1,71	1,71
Fenilalanina + tirosina (%) <i>Phenylalanine (%) + tyrosine</i>	2,80	2,82	2,82	2,82	2,81

Diariamente, pela manhã, foi mensurada a amplitude térmica, a partir de um termômetro de mercúrio, de máxima e mínima, com precisão de ± 1 °C.

Quinzenalmente foram mensurados nos tanques onde estavam contidos os “hapas”, em horários pré-determinados, os teores de oxigênio dissolvido da água (oxímetro digital Hanna F-HI 9147) às 6:00 horas e o pH da água (pHmetro digital Hanna F-HI 8424) às 6:00 e às 16:00 horas.

Após o período de condicionamento foi realizada novamente a colheita dos ovos para avaliação do percentual de fêmeas desovantes, o peso médio das fêmeas desovantes, número total de ovos por fêmea desovante, o número de ovos por grama de fêmea desovante, número de ovos por grama de fêmeas acasaladas, o peso médio e o diâmetro médio dos ovos. Para isto, no momento da colheita, além da mensuração do peso e comprimento padrão corporal e do volume total de ovos fertilizados liberados, foram colhidas amostras de 2 mL dos ovos de cada fêmea desovante e fixados em solução de formalina 4% (adaptado de El-Sayed et al., 2003 e El-Sayed et al., 2005). Em seguida, os ovos fixados foram submetidos à mensuração do peso e dos diâmetros, menor, maior e médio. Os dois últimos parâmetros foram obtidos a partir de balança analítica de precisão 0,0001 g e microscópio estereoscópio dotado de ocular micrométrica, a partir de amostras de 100 e 20 ovos fixados, respectivamente (adaptado de Lavens et al., 1999 e Ballestrazzi et al., 2003).

Após a colheita dos ovos, estes foram submetidos ao processo de incubação artificial, segundo MacIntosh & Little (1995), em incubadoras confeccionadas em PVC, com fundo cego e redondo, com volume útil de 3,5 L. Todos os ovos de uma única unidade experimental foram incubados, separadamente, em uma única incubadora.

Para a incubação artificial dos ovos, foi utilizado um sistema de recirculação semi fechado, com volume total de 3,5 m³ e troca de 30% do volume total da água do sistema por dia. A temperatura da água do sistema de incubação foi aquecida a partir de resistência elétrica acoplada a um termostato de precisão ± 1 °C, de modo a manter a temperatura da água entre 25 e 27 °C.

Aproximadamente dois dias após o início da incubação, quando ocorreu a eclosão dos ovos, foram retiradas amostras de 20 larvas de cada incubadora a fim de se mensurar o peso *in natura* dos animais no momento da eclosão (adaptado de El-Sayed et al., 2003).

Após a eclosão dos ovos, foram utilizadas 500 tilápias com idade de três dias, para avaliar os efeitos das rações fornecidas aos reprodutores sobre o tempo de sobrevivência das proles ao jejum. As proles foram distribuídas em 20 aquários de 25 L, onde cada

aquário conteve 25 peixes. Para tanto, foi considerado o tempo necessário para a mortalidade de 100% dos peixes nos aquários (adaptado de Lavens et al., 1999).

Ainda, três dias após a eclosão, quando os animais iniciaram o processo de natação superficial (MacIntosh & Little, 1995) foi mensurada a taxa de sobrevivência à incubação, a partir da contagem do número total de larvas vivas em cada unidade experimental.

Após a colheita dos ovos, os reprodutores foram novamente submetidos ao processo de descanso reprodutivo descrito anteriormente. Depois deste período de descanso, as fêmeas foram sedadas a partir da imersão em solução contendo óleo de cravo (Taylors & Roberts, 1999), a uma concentração de 63 mg.L^{-1} por três minutos (adaptado de Bard et al., 2004) para mensuração individual dos parâmetros de peso e comprimento padrão.

Em seguida, as fêmeas foram submetidas à eutanásia por meio de choque térmico a aproximadamente $1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, pela imersão em água contendo gelo (adaptado de Bombardelli & Hayashi, 2005a e Bombardelli & Hayashi, 2005b), para dissecação e mensuração individual dos pesos do fígado, das gônadas e das vísceras.

A partir destes dados foram avaliados os parâmetros zootécnicos de peso médio final, comprimento padrão médio final, ganho de peso médio, ganho de peso médio diário, conversão alimentar aparente, índice hepatossomático, índice gonadossomático (Vazzoler, 1996) e índice viscerossomático.

Dos animais dissecados foram separados, aleatoriamente, dois fígados de fêmeas de cada unidade experimental, para avaliação histológica e determinação do percentual de inclusão lipídica, totalizando oito fígados analisados por tratamento.

Estes órgãos foram coletados e em seguida fixados em solução de Bouin aquoso por um período de 8 horas e, transferidos, em seguida, para solução de álcool a 70%. Posteriormente, o material foi desidratado pela passagem em séries crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina, para a obtenção de cortes semi-seriados transversais, com $5\mu\text{m}$ de espessura.

De cada fígado, foram confeccionadas quatro lâminas contendo cinco cortes histológicos cada e organizados de modo que, na seqüência, o primeiro corte foi utilizado para coloração com Hematoxilina – Eosina (H.E.) e o corte seguinte com Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) (Figura 2). Este procedimento garantiu a confecção de duas lâminas para cada método de coloração por animal. Destas lâminas, foram utilizados para as análises morfométricas cinco cortes histológicos de cada coloração

por animal, totalizando 40 campos microscópicos corados em H.E. analisados por tratamento e outros 40 campos corados em P.A.S.

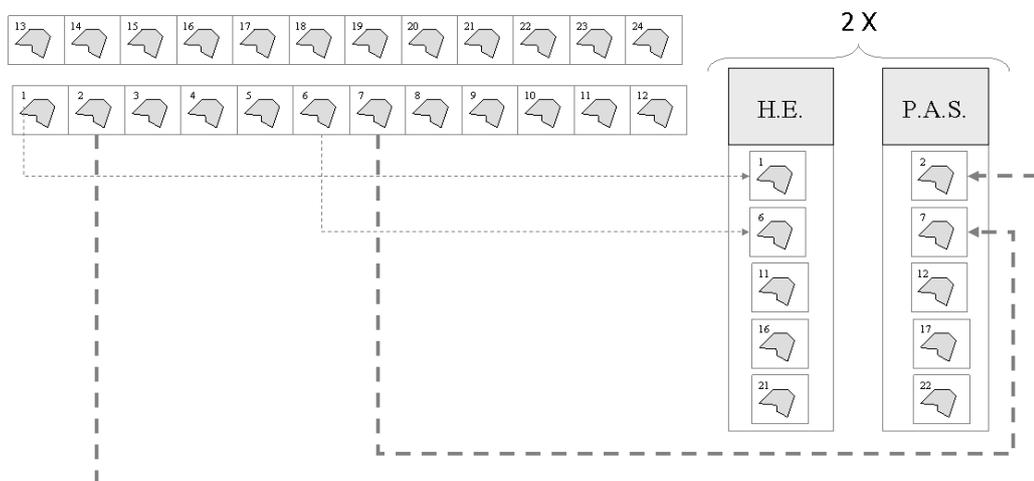


Figura 2 – Representação esquemática da sequência dos cortes histológicos do tecido hepático, corados em Hematoxilina – Eosina (H.E.) e Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para realização das análises morfométricas.

Figure 2 – Scheme representation of histological sections sequence of liver tissue stained with Haematoxylin-Eosin (H.E.) and Periodic Schiff Acid (P.S.A.) to carry out morphometric analysis.

Para estimar o percentual de inclusão lipídica, realizou-se análise morfométrica, tomando-se como medida padrão a área total do campo microscópico ($32.690,43 \mu\text{m}^2$) (Figura 3 A1) subtraída da área ocupada pela veia centro lobular (Figura 3 A2), sinusóides, núcleos e nucléolos (L1) (Figura 3 B1 e B2). Definindo-se esta área, em seguida foi determinado a área marcada por glicogênio (L2) (Figura 3 C1 e C2). A diferença entre as áreas L1 e L2 indicou a área ocupada por lipídios.

A análise morfométrica foi realizada por meio de microscópio óptico Zeiss, em objetiva de 40X e as 400 imagens obtidas e analisadas através do pacote de análise de imagens Image Pro-Plus 4.5[®].

Os dados obtidos foram, inicialmente, submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA) a um nível de 5% de significância. Em caso de evidência de efeito significativo, foi aplicada a análise de variância (ANOVA), individualmente, para cada variável resposta a um nível de 5% de significância. As variáveis que sofreram efeito dos tratamentos foram submetidas ao protocolo de regressão linear múltipla do software Statistica 7.0[®].

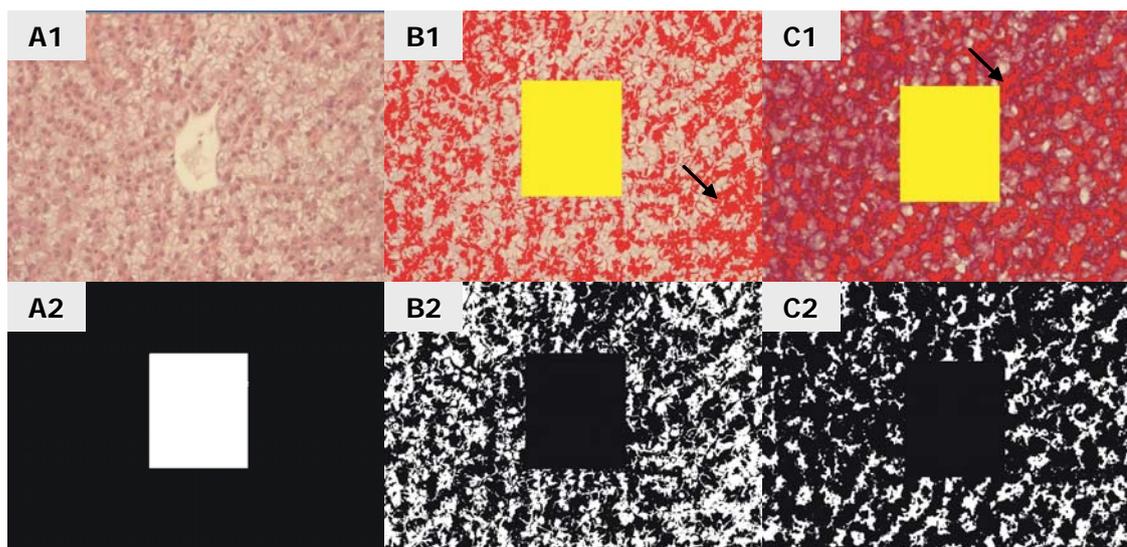


Figura 3 – Método de análise de imagem (morfometria) do fígado de peixes por meio do software Image Pró-Plus 4.5[®]. A1 = imagem do campo microscópico corado em H.E. A2 = negativo da imagem A1 marcando a área da veia centro lobular. B1=campo microscópico corado em H.E. marcando a área ocupada por sinusóides, núcleos e nucléolos. B2 = negativo da imagem B1. C1 = imagem do campo microscópico corado em P.A.S., marcando a área ocupada por glicogênio. C2 = negativo da imagem C1. As setas indicam a área marcada pelo software.

Figure 3 – Procedure to image analysis (morphometry) of fish liver detailing by Image Pro Plus 4.5[®] software. A1 = microscopic field image stained with HE A2 = A1 negative image marking the center lobular vein area. B1 = microscopic field stained with HE marking the area occupied by sinusoids, nuclei and nucleoli. B2 = B1 negative image. C1 = microscopic field image stained with PAS, marking the area occupied by glycogen. C2 = C1 negative image. The arrows indicate the area marked by the software.

Resultados e Discussão

Os parâmetros físico-químicos da água de cultivo permaneceram dentro dos valores recomendados para o cultivo de peixes (Boyd, 1990; Sipaúba - Tavares, 1995) e para o bom desenvolvimento da espécie (Popma & Phelps, 1998).

A temperatura da água apresentou picos mínimos e máximos de 24,5 e 33,0 °C, com médias de 26,7±1,0 e 30,2±1,2 °C, respectivamente. Este parâmetro físico-químico, é um dos mais influentes no desempenho reprodutivo das tilápias e apesar destes picos, permaneceu durante a maior parte do período experimental entre 26 e 32°C. Este intervalo de temperatura é semelhante ao mantido experimentalmente por Siddiqui et al. (1998) e é considerado ideal para a reprodução (Bhujel, 2000; Little & Hulata, 2000) e para o adequado desenvolvimento embrionário inicial (Rana, 1988; Rana, 1990), desta espécie de peixe.

A concentração média de oxigênio dissolvido na água durante o período experimental foi de $6,11 \pm 1,05 \text{ mg.L}^{-1}$. Estes níveis de oxigênio são adequados, haja vista que, concentrações mínimas necessárias para o bom desempenho reprodutivo de fêmeas desta espécie são acima de $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$, ao amanhecer por volta das 6:00 horas (Little & Hulata, 2000).

Os valores médios de pH da água foram $7,50 \pm 0,09$ pela manhã e $9,33 \pm 0,06$ pela tarde. Este parâmetro também permaneceu dentro do limite considerado adequado para o crescimento da espécie (Little & Hulata, 2000; Ross, 2000). Contudo, não existem estudos que esclareçam se o intervalo de pH adequado para o crescimento também corresponde àquele para a reprodução (Bhujel, 2000).

Os parâmetros de desempenho reprodutivo das fêmeas não foram influenciados ($P > 0,05$) pelas rações (Tabela 3).

O percentual de fêmeas desovantes, verificados no presente experimento (Tabela 3), variaram de 44,05 a 68,33% e podem ser considerados satisfatórios. Bhujel (2000) em sua revisão, faz referências a percentuais de fêmeas desovantes de 29, 39 e 42%, quando estocadas a uma densidade de 10, 5 e 2,5 fêmeas.m⁻², respectivamente. Siddiqui et al. (1998) submeteram reprodutores de tilápia-do-Nilo à rações contendo aproximadamente 3.100 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ e diferentes níveis de proteína bruta por um período de 196 dias e, não verificaram efeito dos tratamentos sobre o intervalo entre as desovas, contudo, em torno de 60% das fêmeas desovaram a cada duas semanas.

El-Sayed et al. (2005) estudaram os efeitos de diferentes fontes de óleo na nutrição de reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), em diferentes salinidades. Estes autores alimentaram os peixes com rações isoprotéicas (40% PB) e isocalóricas (18,6MJ ou 4.445,40 kcal.kg de ração⁻¹) por 165 dias e, também, não verificaram efeito da suplementação do óleo de soja, do óleo de peixe e da mistura de ambos, sobre o intervalo de tempo entre as desovas e a fecundidade, para animais cultivados em água doce. O mesmo foi verificado por El-Sayed et al. (2003), ao estudarem os efeitos de diferentes níveis de proteína dietética para reprodutores desta espécie em diferentes salinidades.

Apesar da fecundidade não ter sido influenciada ($P > 0,05$) pelos tratamentos, em termos de valores absolutos, a ração contendo 3.200 kcal energia digestível.kg de ração⁻¹, produziu em média 5,47 ovos.g de fêmea acasalada⁻¹ (Tabela 3), equivalente a 321,76 ovos.kg de fêmea acasalada⁻¹.dia⁻¹. Estes resultados são próximos aos sugeridos

adequados (350 ovos.kg de fêmea acasalada⁻¹.dia⁻¹) por MacIntosh & Little (1995) em sistemas de manejo de reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) que garantem 10 dias de descanso e 5 de acasalamento. A variação na produção de ovos, pode estar relacionada com o grupo de reprodutores utilizado, haja vista as variações inter e intra-específicas existentes (Coward et al., 2002).

Tabela 3 – Desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.

Table 3 – Reproductive performance of Nile tilapia females (*Oreochromis niloticus* L.), submitted to differents levels of digestible energy in the ration.

Variáveis <i>Variable</i>	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) <i>Digestible energy (kcal.kg of ration⁻¹)</i>					P
	2.700	2.950	3.200	3.450	3.700	
Peso de fêmeas desovantes (g) <i>Spawning female weight (g)</i>	152,20	154,45	156,65	158,02	152,89	0,93
Percentual de fêmeas desovantes (%) <i>Percentual of spawning female (%)</i>	52,86	56,67	68,33	44,05	46,67	0,11
Fecundidade absoluta (x10 ³) ovos.fêmea ⁻¹ <i>Absolute fecundity (eggs.female⁻¹)</i>	126,46	124,08	126,80	146,32	117,12	0,31
Fecundidade relativa (ovos.g fêmea ⁻¹) <i>Relative fecundity (eggs.g of female⁻¹)</i>	8,27	8,31	8,10	9,27	7,75	0,24
Fecundidade relativa (ovos.g de fêmea acasalada ⁻¹) <i>Relative fecundity (eggs.g mating female⁻¹)</i>	4,17	4,50	5,47	3,92	3,49	0,21
Peso dos ovos (mg) <i>Eggs weight (mg)</i>	4,78	4,69	4,66	4,86	4,49	0,32
Diâmetro médio dos ovos (mm) <i>Mean diameter of eggs (mm)</i>	2,24	2,22	2,25	2,30	2,25	0,14
Peso das larvas no momento da eclosão (mg) <i>Larval weight on hatching (mg)</i>	5,13	5,11	5,08	5,13	5,02	0,88
Taxa de sobrevivência durante a o período de incubação (%) <i>Incubation survival rate (%)</i>	69,88	74,65	74,49	71,48	71,57	
Tempo de sobrevivência ao jejum (dias) <i>Time of fasting survival (days)</i>	16,00	18,85	15,75	20,75	21	0,02

Ainda, a inconsistência de efeito das rações sobre os resultados de fecundidade (P>0,05) também pode estar relacionada com o fato das fêmeas desovantes não apresentarem o mesmo tamanho corporal ao final do período experimental. Conseqüentemente, valores de fecundidade absoluta e relativa diferenciados, levaram a uma maior dispersão dos dados, que variaram de 1.171,20 a 1.463,20 ovos.fêmeas

desovante⁻¹, de 7,75 a 9,27 ovos.g de fêmea desovante⁻¹ e de 3,49 a 5,47 ovos.g de fêmea acasalada⁻¹ (Tabela 3).

Os pesos e diâmetros médios dos ovos, taxa de sobrevivência durante o período de incubação, peso médio das larvas no momento da eclosão e tempo de sobrevivência das larvas ao jejum também, não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos (Tabela 3). Contudo, os resultados destas variáveis permaneceram entre 4,49 e 4,86 mg, entre 2,22 e 2,30 mm, entre 69,88 e 74,65%, entre 5,02 e 5,13 mg e entre 15,75 e 21 dias, respectivamente.

Coward & Bromage (2000) sugerem que o diâmetro médio dos ovos de tilápias do Nilo seja de aproximadamente 2,95 x 2,25 mm.

El-Sayed et al. (2005) também verificaram inconsistência quanto aos efeitos da suplementação dietética de diferentes fontes de óleo para reprodutores de tilápia-do-Nilo em água doce, em relação ao diâmetro médio dos ovos e a taxa de sobrevivência durante o período de incubação. Os resultados verificados por estes autores foram de 2,27 a 2,34 mm e 49,71 a 61,43%, respectivamente.

Resultados semelhantes foram observados por Ballestrazzi et al. (2003), ao estudarem os efeitos da substituição do óleo de peixe pelo óleo vegetal de amendoim, sobre o peso úmido e teor de lipídios totais nos ovos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mikiss*). Todavia, estes autores verificaram alteração quanto ao perfil de ácidos graxos dos ovos, com maior deposição de ácidos graxos saturados, quando os animais foram alimentados com rações compostas unicamente por óleo vegetal.

O uso de dietas contendo diferentes níveis de ácidos graxos n-3 e suplementação com vitaminas C e E para reprodutores de “turbot” (*Scophthalmus maximus*), apesar de evidenciarem efeito das dietas sobre as características das larvas, não promoveram efeito sobre a sobrevivência das larvas ao jejum (Lavens et al., 1999).

Os resultados de peso médio das fêmeas desovantes (Tabela 3), peso e comprimento padrão final médios, ganho de peso médio e médio diário e, conversão alimentar aparente (Tabela 4), não apresentaram efeito ($P>0,05$) entre os tratamentos.

Estes resultados foram esperados, uma vez que a taxa de arraçoamento e a frequência de alimentação empregada foram adequadas para o bom desempenho reprodutivo da espécie (Bhujel, 2000) e não para o máximo desempenho em termos de ganho de peso e crescimento. Isto pode ser observado, especialmente, em relação à conversão alimentar aparente (Tabela 4), valores os quais, foram elevados (2,11 a 3,36),

basicamente porque as fêmeas em atividade reprodutiva destinam grande parte de suas reservas energéticas para a reprodução e não para o crescimento.

Tabela 4 – Desempenho zootécnico de fêmeas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.

Table 4 – Growth performance of Nile tilapia females (*Oreochromis niloticus* L.), submitted to different levels of digestible energy in the ration.

Variáveis Variable	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) Digestible energy (kcal.kg of ration ⁻¹)					P
	2700	2950	3200	3450	3700	
Peso inicial (g) Initial weight (g)	114,43	109,97	111,33	115,00	113,37	0,08
Comprimento padrão inicial (cm) Initial standart lenght (cm)	15,00	14,88	14,99	15,13	15,15	0,09
Peso final médio (g) Final mean weight (g)	154,53	156,1	159,2	161,81	161,42	0,48
Comprimento padrão final (cm) Final standart lenght (cm) ¹	16,85	16,88	17,16	17,30	17,16	0,24
Ganho de peso médio (g) Mean weight gain (g)	8,27	13,83	8,47	10,05	9,82	0,21
Ganho de peso médio diário (g.dia ⁻¹) Mean daily weight gain (g.g ⁻¹)	0,49	0,81	0,50	0,59	0,58	0,21
Conversão alimentar aparente (g.g ⁻¹) Apparent feed conversion (g.g ⁻¹)	3,22	2,11	3,36	2,60	2,91	0,33
Índice hepatossomático (%) Hepatosomatic index (%)	1,80	1,88	1,93	1,85	1,97	0,38
Índice gonadossomático (%) Gonadosomatic index (%)	4,01	3,90	3,77	3,63	3,94	0,92
Índice viscerossomático (%) Visceralssomatic index (%)	5,77	5,96	6,16	6,06	6,06	0,99

Os valores de índices hepatossomático, gonadossomático e viscerossomático verificados no presente experimento, também não apresentaram efeito ($P>0,05$) dos tratamentos e variaram de 1,80 a 1,97%, 3,63 a 4,01% e 5,77 a 6,16%, respectivamente (Tabela 4).

A inconsistência dos resultados de desempenho reprodutivo e zootécnico e as características dos ovos e larvas podem estar associadas a duas possíveis explicações.

Primeiro, o período de tempo em que os peixes foram submetidos às rações experimentais pode ter sido muito curto para ser efetivo. Este fato foi evidenciado também para reprodutores de “turbot” (*Scophthalmus maximus*) submetidos as diferentes dietas durante dois e três meses (Lavens et al., 1999). Siddiqui et al. (1998), apesar de observarem efeito dos tratamentos sobre a fecundidade de tilapias do Nilo, alimentadas por 196 dias com rações contendo diferentes níveis de proteína, sugerem

que as variações dos resultados entre pesquisas deste tipo podem ser atribuídas a fatores como o tempo de tratamento.

O período de tempo em que os animais são alimentados é de grande importância para garantir a influência das dietas sobre a reprodução. Segundo Navas et al. (1997), o período vitelogênico parece ser o mais importante para influenciar o momento quando, especialmente, ácidos graxos são incorporados nos ovócitos em desenvolvimento (Wiegand, 1996; Izquierdo et al., 2001) por meio do precursor hepático, a vitelogenina (Tyler & Sumpter, 1996; Coward et al., 2002; Kim & Takemura, 2002).

A segunda hipótese, seria o fato das rações experimentais terem sido confeccionadas a base de milho, farelo de soja e óleo de soja. Desta forma, os níveis crescentes de energia das rações foram alcançados devido à inclusão do óleo de soja, o qual, por ser de origem vegetal, apresenta grandes quantidades do ácido graxo 18:2 n-6 (NRC, 1993). Este óleo possui pequenas quantidades dos ácidos graxos n-3, especialmente o eicosapentaenóico e o docosahexaenóico (Figueiredo-Silva et al., 2005). Isto, possivelmente, pode ter levado à alteração da relação n-3/n-6 utilizadas nas rações experimentais e, conseqüentemente, às desordens fisiológicas (Mazorra et al., 2003).

Dentre as possíveis desordens fisiológicas, pode-se considerar a alteração do metabolismo dos eicosanóides, principalmente, a limitação da produção e da ação das prostaglandinas da série 3. Estas prostaglandinas são as principais responsáveis pela ruptura folicular e ovulação em peixes (Sargent, 1995) e estimulam o comportamento de desova (Baldisseroto, 2002).

Contrariamente as afirmações anteriores, Izquierdo et al. (2001), em sua revisão, relataram que estudos utilizando rações suplementadas com óleo de soja para reprodutores de tilápia-do-Nilo, têm apresentado bons resultados em períodos experimentais de 24 semanas. Neste caso, a melhora no desempenho reprodutivo está relacionada ao número de fêmeas desovantes, frequência de desova, número de larvas ou alevinos por desova e número total de larvas ou alevinos produzidos, em comparação com outras rações experimentais suplementadas com óleo de fígado de bacalhau.

O fato do emprego da fonte de proteína das rações experimentais ter sido unicamente de origem vegetal, provavelmente, não teve influência negativa. Estudos prévios têm mostrado que os níveis plasmáticos de esteróides sexuais (17β -estradiol), os índices hepatossomático e gonadossomático e a presença de ovócitos maduros foram afetados pela substituição total de farinha de peixe por farelo de soja em rações de

fêmeas de tilápia-do-Nilo, somente a partir da 20^a semana de criação (Fontainhas-Fernandes et al., 2000).

As análises histológicas do tecido hepático submetido à coloração em H.E., não evidenciaram alterações das estruturas morfológicas, tão pouco a presença de infiltrados inflamatórios. Isto sugere uma preservação de tais estruturas independente dos tratamentos. Contudo, foi evidenciada uma relação diretamente proporcional ($P < 0,05$) entre os níveis de energia digestível das rações e percentual de inclusão lipídica nos hepatócitos (Figura 4).

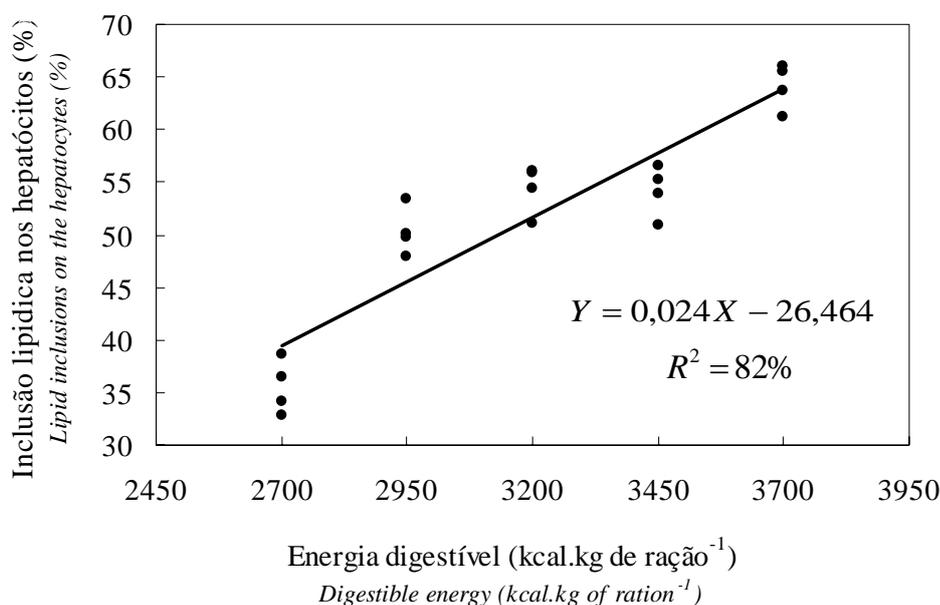


Figura 4 – Área percentual de inclusão por lipídeos em hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.

Figure 4 – Percentage area of inclusion by lipids on hepatocytes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) females, submitted to different levels of digestible energy in the ration.

Alterações do tecido hepático semelhantes às verificadas no presente experimento foram constatadas por Caballero et al. (2004) ao estudarem os efeitos da substituição do óleo de peixe pelo óleo de soja em rações para “sea bream” (*Sparus aurata* L.). Estes autores verificaram que o uso de níveis superiores de óleo de soja nas rações, causou alterações histológicas do tecido hepático, especialmente, quanto ao aumento do volume de inclusão de lipídeos e a ocorrência de quadros clínicos de esteatose nos hepatócitos. Ruyter et al. (2006) verificaram efeitos semelhantes para o salmão do atlântico (*Salmo salar*).

A inclusão lipídica nos hepatócitos, na forma de vacúolos lipídicos, pode levar a redução da indução da oxidação em fígados de “sea bream” (Caballero et al., 2004). Desta forma, animais com estes quadros, possivelmente, podem promover a perda ou redução da disponibilidade de energia metabólica.

Por outro lado, a substituição do óleo de peixe pelo óleo de soja, em rações para juvenis de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mikiss*) em até 50%, não causaram evidências de alterações histológicas do fígado (Figueiredo-Silva et al., 2005).

De modo geral, o aumento ($P < 0,05$) da ocupação dos hepatócitos por lipídeos, em função do aumento dos níveis energéticos das rações pode ser considerado como um evento normal às condições experimentais impostas no presente trabalho.

Contudo, os resultados de histologia reforçam a hipótese de que o período de tempo em que os reprodutores foram alimentados com as dietas experimentais foi insuficiente para causar efeito sobre os parâmetros reprodutivos. Quer dizer que, o tecido hepático apresenta importância fundamental para o metabolismo e, principalmente, apresenta relação direta com a vitelogênese e incorporação de vitelo nos ovócitos. Assim, antes de os efeitos sobre parâmetros reprodutivos serem manifestados, há a necessidade de alterações metabólicas, especialmente, neste caso do fígado.

Ainda podem ser feitas especulações sobre os efeitos das possíveis reduções de relações entre os ácidos graxos n-3/n-6 nas rações e, conseqüentemente, nos animais. Isto porque, a deposição de lipídeos nos hepatócitos, não necessariamente, está condicionada às vias metabólicas relacionadas com a produção de hormônios de importância reprodutiva.

Conclusões

Os níveis crescentes de energia digestível nas rações, obtidos pela inclusão do óleo de soja, não influenciaram os parâmetros reprodutivos e os zootécnicos das fêmeas de tilápia-do-Nilo, contudo promovem a inclusão lipídica nos hepatócitos. Estes resultados podem estar associados ao curto período de tempo em que os reprodutores foram alimentados com as rações experimentais, ou até mesmo, pela possível redução dos níveis de ácidos graxos n-3 nas rações.

Literatura Citada

- ALCESTE, C.; JORRY, D.E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p. 349-364.
- AL-HAFEDH, Y.S.; SIDDIQUI, A.Q.; AL-SAIADY, M.Y. Effects of dietary protein levels on gonad maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile tilapia. **Aquaculture International**, v.7, p.319–332, 1999.
- ALMANSA, E.; PÉRZ, M.J.; CEJAS, J.R. et al. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. **Aquaculture**, v.170, p.323–336, 1999.
- ASTURIANO, J.F.; SORBERA, L.A.; CARRILO, M. et al. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA – enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. **Aquaculture**, v.194, p.173–190, 2001.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 211p.
- BALLESTRAZZI, R.; RAINIS, S.; TULLI, F. et al. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v.11, p.289–299, 2003.
- BARD, J.; ASSUMPÇÃO, L.; SCHAEFFER, L. et al. Emprego de óleo de cravo na indução à anestesia de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPOSIO PARANAENSE DE ENGENHARIA DE PESCA, 2., 2004, Toledo. **Anais...** Toledo: Simpósio Paranaense de Engenharia de Pesca/Gmosis, [2004] (CD-ROOM).
- BELL, J.G.; FARNDAL, B.M.; BRUCE, M.P. et al. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid composition of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.149, p.107–119, 1997.
- BHUJEL, R. C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. **Aquaculture**, v.181, p.37–59, 2000.
- BHUJEL, R.C.; YAKUPITIYAGE, A.; TURNER, W.A. et al. Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa – in – pond system. **Aquaculture**, v.194, p.303–314, 2001.
- BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. Feminilização de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com valerato-de-estradiol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.357-364, 2005a.
- BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. Masculinização de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com 17 α -metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.365-372, 2005b.
- BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. **AQUICULTURA – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003. 128p.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para o tilápia-do-Nilo

- (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- BOYD, C.E. **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing Co, 1990. 482p.
- BROMAGE, N. Broodstock management and seed quality – general considerations. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.1–25.
- BROOKS, S.; TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.287–416, 1997.
- CABALLERO, M.J.; IZQUIERDO, M.S.; KJORSVIK, E. et al. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus auratus* L., caused by short- or long – term feeding with vegetable oils as the sole lipid source. **Journal of Fish Disease**, v.27, p.531 – 541, 2004.
- COWARD, K.; BROMAGE, N.R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.10, p.1–25, 2000.
- COWARD, K.; BROMAGE, N.R.; HIBBITT, O. et al. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.12, p.33–58, 2002.
- CRESCÊNCIO, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. p.23–36.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187–196, 2005.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619–632, 2003.
- FIGUEIREDO-SILVA, A.; ROCHA, E.; DIAS, J. et al. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.147-155, 2005.
- FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; MONTEIRO, M.; FIGUEIREDO, A. et al. Partial or total replacement of fish meal by plant protein affects gonadal development and plasma 17 β -estradiol levels in female Nile tilapia. **Aquaculture International**, v.8, p.299 – 313, 2000.
- GUNASEKERA, R.M.; LAM, T.J. Influence of dietary protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.149, p.57–69, 1997.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Effects of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.134, p.169–183, 1995.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.152, p.205–221, 1997.
- GUNASEKERA, R.M.; SHIM, K.F.; LAM, T.J. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.146, p.245–259, 1996.
- HARDY, R. W. Collaborative opportunities between fish nutrition and other disciplines in aquaculture: an overview. **Aquaculture**, v.177, p.217–230, 1999.
- HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. et al. Uso de diferentes graus de

- moagem dos ingredientes em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3, p.733-737, 1999.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Estatística da Pesca 2005 Brasil – Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Brasília: IBAMA, 2007. 108p.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p.25–42, 2001.
- KIM, B.; TAKEMURA, A. *In vitro* vitellogenin synthesis in primary cultures of tilapia hepatocytes. **Fisheries Science**, v.68, p.123–131, 2002.
- LAVENS, P.; LEBEGUE, E.; JAUNET, H. et al. Effects of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. **Aquaculture International**, v.7, p.225–240, 1999.
- LITTLE, D.C.; HULATA, G. Strategies for tilapia seed production. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **Tilapia: Biology and Exploitation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 2000. p.226–326.
- LITTLE, D.C.; TURNER, W.A.; BHUJEL, R.C. Commercialization of a hatchery process to produce MT-treated Nile tilapia in Thailand. In: SIMPÓSIO CENTROAMERICANO DE ACUACULTURA, 4., 1997, Honduras. **Anais...** Honduras: Sociedade Centro Americana de Acuicultura, 1997. p.108–118.
- MACINTOSCH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.277–320.
- MAZORRA, C.; BRUCE, M.; BELL, J.G. et al. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v.227, p.21–33, 2003.
- MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. et al. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.81-85, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirement of Fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 115p.
- NAVAS, J.M.; BRUCE, M.; THRUSH, M. et al. The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. **Journal of Fish Biology**, v.51, p.760–773, 1997.
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p.127-145.
- RANA, K. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. **Aquaculture**, v.87, p.165–181, 1990.
- RANA, K. Reproductive biology and the hatchery rearing of tilapia eggs and fry. In: MUIR, J.F.; ROBERTS, R. (Ed.) **Recent Advances in Aquaculture – vol. 3**. New York: Timber Press, 1988. p.343–406.
- ROSS, L.G. Environmental physiology and energetics. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **TILAPIAS: Biology and Exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.89–128.
- RUYTER, B.; MOYA-FALCÓN, C.; ROSEN LUND, G. et al. Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects of temperature and dietary soybean oil. **Aquaculture**, v.252, p.441-452, 2006.

- SANTIAGO, C.B.; LARON, M.A. Growth and fry production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), on different feeding schedules. **Aquaculture Research**, v.33, p.129–136, 2002.
- SARGENT, J.; MCEVOY, L.; ESTEVEZ, A. et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. **Aquaculture**, v.179, p.217–229, 1999.
- SARGENT, J.R. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.353–372.
- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HAFEDH, Y.S.; ALI, S.A. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v.29, p.349–358, 1998.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. **Limnologia Aplicada à Aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 70p.
- TACON, P.; NDIAYE, P.; CAUTY, C. et al. Relationships between the expression of maternal behavior and ovarian development in the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.146, p.261–275, 1996.
- TAYLORS, P.W.; ROBERTS, S.D. Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.150–155, 1999.
- TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Oocyte growth and development in teleosts. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, p.287–318, 1996.
- VASSALO-AGIUS, R.; WATANABE, T.; YOSHIZAKI, G. et al. Quality of eggs and spermatozoa of Rainbow trout fed an n-3essential fatty acid-deficient diet and its effects o the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. **Fisheries Science**, v.67, p.818–827, 2001.
- VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169p.
- WATANABE, T. Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In: COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. (Ed.) **Nutrition and Feeding in Fish**. London: Academic Press, 1985. p.395–414.
- WATANABE, T.; VASSALO-AGIUS, R. Broodstock nutrition research on marine finfish in japan. **Aquaculture**, v.227, p.35–61, 2003.
- WATANABE, W.O.; LOSORDO, T.M.; FITZSIMMONS, K. et al. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trends and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v.10, n.3, p.465–498, 2002.
- WIEGAND, M.D. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.6, p.259–286, 1996.
- WING-KEONG, N. Potencial of palm oil utilization in aquaculture feeds. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.11, p.473–476, 2002.

VI – Energia digestível a partir da inclusão do óleo de soja em rações para machos de tilápia-do-Nilo: desempenho reprodutivo, zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos

RESUMO: O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo e zootécnico, além da deposição de lipídios no tecido hepático de machos de tilápia-do-Nilo alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, a partir da inclusão do óleo de soja. Foram utilizados 400 reprodutores, sendo 300 fêmeas e 100 machos, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os reprodutores foram alimentados com rações contendo 35% de proteína bruta e 2.700, 2.950, 3.200, 3.450 e 3.700 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ e, submetidos ao manejo reprodutivos em “hapas” por 101 dias. O modelo ajustado pela análise de regressão múltipla sugere o melhor resultado (P<0,05) de concentração espermática e percentual de espermatozoides normais para reprodutores alimentados com rações contendo 3.465,56 e 3.443,43 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹, produzindo 7,98x10⁹ espermatozoides.mL de sêmen¹ e 38,98% de espermatozoides normais, respectivamente. Os níveis de energia das rações também causaram um aumento (P<0,05) das inclusões lipídicas nos hepatócitos. A produção de sêmen, o pH seminal, índice de sobrevivência espermática e tempo de ativação espermática não foram afetados pelos tratamentos (P>0,05). O desempenho zootécnico também não foi afetado pelos níveis de energia das rações (P>0,05). A melhora do desempenho reprodutivo pode ter relação com o aumento da energia metabólica disponível para a espermatogênese e com a maior disponibilidade de ácidos graxos n-6. Os níveis energéticos de 3.465,56 e 3.443,43 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ proporcionam melhor desempenho reprodutivo para machos de tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: fígado, nutrição, *Oreochromis niloticus*, peixes, reprodução, sêmen

VI- Digestible energy from the soybean oil inclusion in rations of-the-Nile tilapia males: reproductive and zootechnical performance and lipids deposition in hepatocytes

ABSTRACT: This experiment was carried out to evaluate the reproductive and zootechnical performance, and the lipids deposition in the liver tissue of the Nile tilapia males fed with diets containing different levels of digestible energy from the oil soybean inclusion. There were used 400 breeding, being 300 females and 100 males, distributed in a completely randomized design composed of five treatments and four replications. The breeding were fed with diets containing 35% of crude protein and 2,700, 2,950, 3,200, 3,450 and 3,700 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹, and submitted to hapas reproductive management by 101 days. The model adjusted for multiple regression analysis suggests the best result (P <0.05) for sperm concentration and percentage of normal sperm for breeding fed with diets containing 3.465,56 and 3.443,43 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹, producing 7.98 x10⁹ sperm.mL per semen⁻¹ and 38.98% of normal sperm, respectively. The diets energy levels also caused an increase (P <0.05) of lipid inclusions in hepatocytes. The sperm production, seminal pH, sperm survival index and sperm activation time were not affected by treatments (P> 0.05). The zootechnical performance also was not affected by the diets energy levels (P> 0.05). The improvement of the reproductive performance may be related with the increased metabolic energy available for spermatogenesis and with the increased n-6 fatty acids availability. The energy levels of 3.465,56 and 3.443,43 kcal energy digestível.kg of feed⁻¹ give a better reproductive performance for the-Nile Tilapia males.

Keywords: fish, liver, nutrition, *Oreochromis niloticus*, reproduction, sperm

Introdução

Informações sobre a alimentação e nutrição de peixes, especialmente, as tilápias, são relativamente abundantes para as fases de crescimento até o tamanho de abate (NRC, 1993; Santiago & Laron, 2002). Por outro lado, a nutrição de reprodutores é menos estudada, principalmente, por fatores mercadológicos (Bhujel, 2000) e pelas dificuldades impostas para a condução dos experimentos (Brooks, et al., 1997; Vassalo-Agius et al., 2001a).

Apesar do conhecimento da influência das dietas dos reprodutores sobre a produção e a qualidade espermática (Billard et al., 1995; Vassalo-Agius et al., 2001b) e seminal (Ferrell, 1991; Asturiano et al., 2001; Watanabe & Vassalo-Agius, 2003), na tilapicultura, os trabalhos existentes são especialmente voltados para a avaliação do desempenho reprodutivo das fêmeas (Al-Hafedh et al., 1999; Fontainhas-Fernandes et al., 2000; El-Sayed et al., 2003; El-Sayed et al., 2005). Os poucos trabalhos publicados voltados aos machos de peixes, avaliam os efeitos de fatores anti nutricionais sobre o desempenho reprodutivo (Salaro et al., 1999; Rinchard et al. 2002).

A busca pela qualidade dos gametas masculinos deve ser estudada, pois, garante o sucesso reprodutivo, contribuindo na fertilização natural ou artificial, principalmente, no processo intra-ovocitário de inicialização do desenvolvimento embrionário (Coward et al., 2002).

A manutenção nutricional dos reprodutores ainda é importante para garantir o desempenho reprodutivo, pois, afeta o funcionamento e morfologia de órgãos como o fígado, importante no metabolismo e no fornecimento de energia (Caballero et al., 2004).

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os desempenhos reprodutivos e zootécnicos e também a deposição de lipídios no tecido hepático de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, a partir da inclusão de óleo de soja.

Material e Métodos

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia da Reprodução dos Animais Aquáticos Cultiváveis da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no Centro de Pesquisa em Aqüicultura Ambiental do Instituto Ambiental do Paraná, por

meio do convênio IAP/UNIOESTE e, no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Os reprodutores foram submetidos aos manejos reprodutivo, nutricional e alimentar durante o período de 11 de janeiro a 22 de abril de 2005.

Foram utilizados 400 reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem Tai – Chitralada, dos quais eram 300 fêmeas e 100 machos.

Machos e fêmeas foram alojados separadamente em 40 “hapas” de malha 1mm X 4mm e, distribuídos, aleatoriamente, em dois viveiros escavados com dimensões de 20m X 10m.

As fêmeas foram estocadas em 20 “hapas” de dimensões 3m X 2m, em uma densidade de estocagem de 2,5 animais.m⁻², totalizando 15 animais por “hapa”. Os machos foram estocados em 20 “hapas” de dimensões 2m X 1m, em uma densidade de estocagem de 2,5 animais.m⁻², totalizando cinco animais por “hapa”, respeitando a proporção entre os sexos de 1 machos:3 fêmeas (Little & Hulata, 2000).

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco rações contendo 35% de proteína bruta (Bhujel et al., 2001) e cinco diferentes níveis de energia digestível correspondentes a 2.700; 2.950; 3.200; 3.450 e 3.700 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹. Foi considerado como uma unidade experimental um “hapa” de 2m X 1m, contendo cinco machos.

Os reprodutores foram alimentados com rações formuladas (Tabela 5 e 6) e processadas na forma peletizada, com peletes de 2 mm de diâmetro. Para a elaboração das rações, os ingredientes foram triturados em moinho de martelo, utilizando-se peneira de 0,5mm (Hayashi et al., 1999; Meurer et al., 2005).

Os reprodutores foram alimentados, diariamente, com uma frequência de arraçoamento de duas vezes ao dia (El-Sayed et al., 2005), às 10h:00min. e às 16h:00min e com taxa de arraçoamento de 1% da biomassa ao dia (Bhujel, 2000). A taxa de arraçoamento foi corrigida a cada 17 dias a partir de biometrias.

Durante o período de condicionamento, machos e fêmeas foram submetidos ao manejo reprodutivo obedecendo a permanência e isolados em descanso reprodutivo por 12 dias (Tacon et al., 1996). Após este período os machos foram transferidos para os “hapas” das fêmeas para o acasalamento, que teve duração de cinco dias. Ao término do acasalamento foi realizada a colheita dos ovos (MacIntosh & Little, 1995) e mensurados o peso e o comprimento padrão dos animais de ambos os sexos, por meio de balança

digital e ictiômetro, de precisão 0,01 g e 0,1 cm, respectivamente. Em seguida, os reprodutores foram, novamente, separados em seus respectivos “hapas”. Este procedimento foi repetido por 93 dias a fim de condicionar os animais ao manejo reprodutivo.

Tabela 5 – Composição percentual das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizada para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.).

Table 5 – Percentage composition of the experimental ration with different digestible energy levels used to broodstock Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).

Alimentos (%) <i>Foods (%)</i>	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) <i>Digestible energy (kcal.kg of ration⁻¹)</i>				
	2700	2950	3200	3450	3700
Farelo de soja ^a <i>Soybean meal</i>	70,75	70,02	70,91	71,81	72,70
Milho ^a <i>Corn</i>	17,68	24,93	19,43	13,92	8,42
Óleo de soja ^a <i>Soybean oil</i>	0,00	0,61	5,21	9,80	14,39
Sabugo de milho <i>Corn-cob</i>	7,11	0,00	0,00	0,00	0,00
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,84	1,77	1,81	1,85	1,90
Calcáreo calcítico <i>Limestone</i>	1,12	1,16	1,13	1,11	1,08
Suplemento min.+vit. ¹ <i>Supplement min.+vit.¹</i>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal comum <i>Comum salt</i>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Antioxidante (BHT) <i>Antioxidant</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

^aDe acordo com os valores de digestibilidade de Boscolo et al. (2002).

^aAccording digestibility value from Boscolo et al. (2002).

¹Níveis de garantia por quilograma do produto (Rovimix peixes): Vit. A, 500.000 UI; Vit. D3, 200.000 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Ác. fólico, 500 mg; Pantotenato Ca, 4.000 mg; Vit. C, 15.000 mg; Biotina, 50 mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Colina, 40.000 mg; Co, 10 mg; Cu, 500 mg; Fe, 5.000 mg; I, 50 mg; Mn, 1500 mg; Se, 10 mg; Zn, 5.000 mg.

¹Warranty levels for kilogram of product (Rovimix fish): Vit. A, 500.000 UI; Vit. D3, 200.000 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Folic acid, 500 mg; Panthontenic calcium, 4.000 mg; Vit. C, 15.000mg; Biotin, 50 mg; Inositol, 10.000; Nicotinamide, 7.000; Choline, 40.000 mg; Co, 10 mg; Cu, 500 mg; Fe, 5.000 mg; I, 50 mg; Mn, 1500 mg; Se, 10 mg; Zn, 5.000 mg.

Diariamente, pela manhã, a amplitude térmica (°C) foi mensurada a partir de um termômetro de máxima e mínima, com precisão de ± 1 °C. Quinzenalmente foram mensurados, nos tanques onde estavam contidos os “hapas”, em horários pré-determinados, os teores de oxigênio dissolvido da água (oxímetro digital Hanna F-HI 9147) às 6:00 horas e o pH da água (pHmetro digital Hanna F-HI 8424) às 6:00 e às 16:00 horas.

Ao término do experimento, os peixes foram sedados por imersão em solução contendo óleo de cravo (Taylors & Roberts, 1999), a uma concentração de 63 mg.L⁻¹, por três minutos (adaptado de Bard et al., 2004). Em seguida foram mensurados

individualmente os parâmetros peso e comprimento padrão, além dos parâmetros de desempenho reprodutivos dos machos e qualidade seminal e espermática.

Tabela 6 – Composição química das rações experimentais com diferentes níveis de energia digestível utilizada para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.).

Table 6 – Chemistry composition of the experimental ration with different digestible energy levels used to broodstock Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).

Nutrientes <i>Nutrients</i>	Energia digestível (kcal.kg ⁻¹)				
	<i>Digestible energy (kcal.kg⁻¹)</i>				
	2700	2950	3200	3450	3700
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosforo total (%) <i>Total phosphorus (%)</i>	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Cinzas (%) <i>Ash (%)</i>	8,43	8,34	8,35	8,35	8,35
Amido (%) <i>Starch (%)</i>	20,56	24,99	21,68	18,37	15,06
Fibra bruta (%) <i>Crude fiber (%)</i>	6,95	4,62	4,57	4,52	4,47
Gordura total (%) <i>Total fat (%)</i>	1,62	2,44	6,81	11,18	15,55
Energia digestível (kcal.kg ⁻¹) <i>Digestible energy (kcal.kg⁻¹)</i>	2700	2950	3200	3450	3700
Proteína digestível (%) <i>Digestible protein (%)</i>	31,12	31,33	31,31	31,30	31,28
Proteína bruta (%) <i>Crude protein (%)</i>	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
18:2 n-6	0,85	1,31	3,69	6,07	8,46
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	2,01	2,01	2,02	2,03	2,04
Metionina (%) <i>Methionine (%)</i>	0,49	0,50	0,49	0,49	0,49
Metionina + cistina (%) <i>Methionine+cystine (%)</i>	0,96	0,98	0,97	0,96	0,95
Triptofano (%) <i>Tryptophan (%)</i>	0,47	0,47	0,47	0,48	0,48
Treonina (%) <i>Threonine (%)</i>	1,32	1,33	1,33	1,32	1,32
Arginina (%) <i>Arginine (%)</i>	2,43	2,43	2,44	2,45	2,45
Glicina+serina (%) <i>Glycine+serine (%)</i>	3,28	3,31	3,30	3,30	3,30
Isoleucina (%) <i>Isoleucine (%)</i>	1,54	1,55	1,55	1,56	1,56
Valina (%) <i>Valine (%)</i>	1,58	1,59	1,59	1,59	1,58
Leucina (%) <i>Leucine (%)</i>	2,68	2,73	2,71	2,68	2,65
Histidina (%) <i>Histidine (%)</i>	0,87	0,88	0,88	0,88	0,87
Fenilalanina (%) <i>Phenylalanine (%)</i>	1,70	1,71	1,71	1,71	1,71
Fenilalanina + tirosina (%) <i>Phenylalanine (%) + tyrosine</i>	2,80	2,82	2,82	2,82	2,81

A colheita de sêmen foi realizada por meio de aplicação de massagem abdominal nos reprodutores, no sentido céfalo – caudal. As primeiras parcelas do material liberado foram desprezadas para evitar a possível contaminação com urina. O volume total e relativo ao peso corporal de sêmen liberado por cada macho foi mensurado pela colheita do material em seringas de insulina de volume útil de 1,0 mL e precisão de 0,01 mL (adaptado de Godinho et al., 2003).

Para a manipulação do sêmen, utilizou-se o procedimento descrito por Asturiano et al. (2001), onde o material colhido foi conservado em gelo ($\pm 12^{\circ}\text{C}$) durante o período de tempo necessário para a realização das análises de qualidade do sêmen.

O pH seminal foi mensurado pelo método colorimétrico, utilizando o papel de tornassol.

O tempo de ativação espermática foi mensurado, individualmente e em triplicata, de cada colheita proveniente de um único peixe. Para esta avaliação, 5 μL de sêmen foram diluídos em 200 μL de solução ativadora (água a 26°C) e desta mistura, 5 μL foram observados em microscópio de luz em objetiva 40X. O parâmetro mensurado foi o intervalo de tempo entre o início da ativação e a perda de motilidade de aproximadamente 50% dos espermatozóides (adaptado de Asturiano et al., 2001).

A avaliação do índice de sobrevivência espermática foi realizada a partir método de coloração eosina-nigrosina (Kavamoto & Fogli da Silveira, 1986; Bombardelli et al., 2006). No entanto, utilizou-se 30 μL de sêmen e 90 μL de cada corante, para a realização da mistura e posteriormente confecção do esfregaço (adaptado de Murgas et al., 2003). Após o processamento das lâminas, o material foi analisado em microscópio de luz em objetiva de 40X, sendo contados um número total de 400 espermatozóides de cada colheita proveniente de um único peixe. Foram consideradas células espermáticas mortas, aquelas que apresentaram coloração vermelha ou rosadas, devido à absorção dos corantes e as vivas aquelas sem coloração, por serem impermeáveis aos corantes.

A mensuração da concentração espermática (Billard et al., 1995) foi realizada, individualmente, e em triplicatas, em microscópio de luz em objetiva de 40X pelo método de contagem de células espermáticas em câmara hematimétrica de Neubauer (Mylonas et al., 1997). Neste procedimento, amostras de sêmen foram fixadas em solução de formol salina tamponada (diluição de 1:1000).

Do material anteriormente fixado em solução de formol salina tamponado, foram realizados dois esfregaços, fixados a temperatura ambiente, para a avaliação e mensuração dos índices de alterações morfológicas dos espermatozóides (Rurangwa et al., 2004; Streit Jr. et al., 2005). As lâminas obtidas com os esfregaços foram submetidas à coloração em Rosa de Bengala (Hafez & Hafez, 2004; Streit Jr. et al., 2004) e, em seguida, analisadas em microscópio de luz em objetiva 40X, sendo avaliados um total de 400 espermatozóides de cada colheita proveniente de um único peixe. Os espermatozóides avaliados foram classificados como normais ou com

alterações morfológicas primárias ou secundárias (adaptado de CBRA, 1998; Chenoweth, 2005 e Streit Jr. et al., 2006).

Após a colheita de sêmen, os reprodutores foram novamente estocados em seus respectivos “hapas”, por um período de 8 dias para descanso reprodutivo. Em seguida, os machos foram sedados, conforme descrito anteriormente e, submetidos à eutanásia por meio de choque térmico, pela imersão em água contendo gelo, aproximadamente 1 °C.

Os peixes foram então, individualmente, pesados e medidos quanto ao comprimento padrão e dissecados para obtenção dos pesos das gônadas, do fígado e das vísceras.

A partir destes dados foram avaliados os parâmetros zootécnicos de peso médio final, comprimento padrão médio final, ganho de peso médio, ganho de peso médio diário, conversão alimentar aparente e, índices gonadossomático (Vazzoler, 1996), hepatossomático e viscerossomático.

Dos animais dissecados, foram separados, aleatoriamente, dois fígados de machos de cada unidade experimental para avaliação histológica do fígado e determinação do percentual de inclusão lipídica, totalizando oito fígados analisados por tratamento.

Estes órgãos foram coletados e, em seguida, fixados em solução de Bouin aquoso por um período de 8 horas e transferidos, em seguida, para solução de álcool a 70%. Posteriormente, o material foi desidratado pela passagem em séries crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina, para a obtenção de cortes semi seriados transversais, com 5µm de espessura.

De cada fígado, foram confeccionadas quatro lâminas contendo cinco cortes histológicos cada e organizados de modo que, na seqüência, o primeiro corte foi utilizado para coloração com Hematoxilina – Eosina (H.E.) e o corte seguinte com Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) (Figura 5). Este procedimento garantiu a preparação de duas lâminas para cada método de coloração por animal. Destas lâminas, foram utilizados para as análises morfométricas cinco corte histológicos de cada coloração por animal, totalizando 40 campos microscópicos corados em H.E. analisados por tratamento e outros 40 campos corados em P.A.S.

Para estimar o percentual de inclusão lipídica, realizou-se análise morfométrica, tomando-se como medida padrão a área total do campo microscópico ($32.690,43 \mu\text{m}^2$) (Figura 6 A1) subtraída da área ocupada pela veia centro lobular (Figura 6 A2), sinusóides, núcleos e nucléolos (L1) (Figura 6 B1 e B2). Definindo-se esta área, em seguida foi determinado a área marcada por glicogênio (L2) (Figura 6 C1 e C2). A diferença entre as áreas L1 e L2 indicou a área ocupada por lipídios.

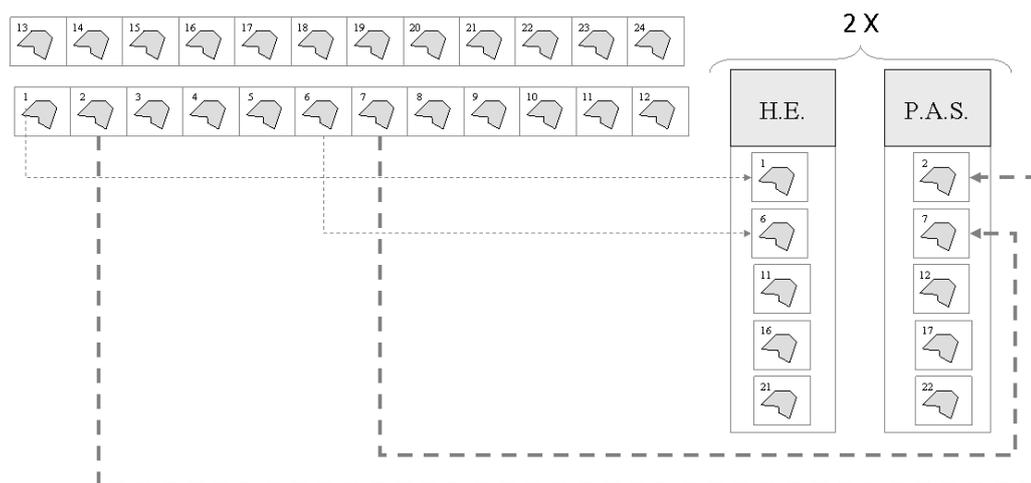


Figura 5 – Representação esquemática da sequência dos cortes histológicos do tecido hepático, corados em Hematoxilina – Eosina (H.E.) e Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para realização das análises morfométricas.

Figure 5 – Scheme representation of histological sections sequence of liver tissue stained with Haematoxylin-Eosin (H.E.) and Periodic Schiff Acid (P.S.A.) to carry out morphometric analysis.

A análise morfométrica foi realizada por meio de microscópio de luz Zeiss, em objetiva de 40X e as 400 imagens obtidas e analisadas através do pacote de análise de imagens Image Pro-Plus 4.5[®].

Os dados obtidos foram, inicialmente, submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA) a um nível de 5% de significância. Em caso de evidência de efeito significativo, foi aplicada a análise de variância (ANOVA), individualmente, para cada variável resposta a um nível de 5% de significância. As variáveis que sofreram efeito dos tratamentos foram submetidas ao protocolo de regressão linear múltipla do software Statistica 7.0[®].

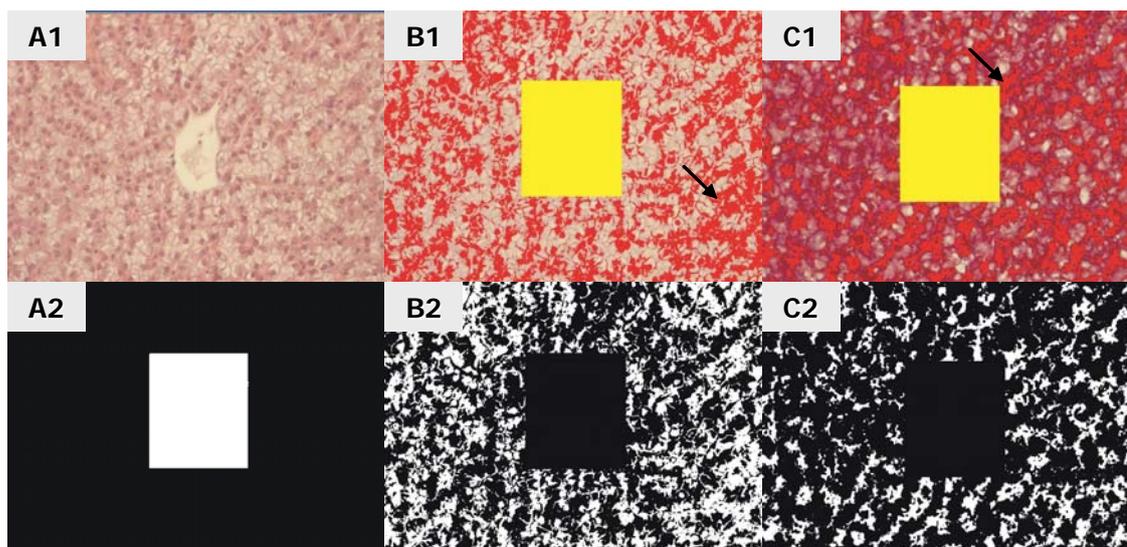


Figura 6 – Método de análise de imagem (morfometria) do fígado de peixes por meio do software Image Pró-Plus 4.5[®]. A1 = imagem do campo microscópico corado em H.E. A2 = negativo da imagem A1 marcando a área da veia centro lobular. B1=campo microscópico corado em H.E. marcando a área ocupada por sinusóides, núcleos e nucléolos. B2 = negativo da imagem B1. C1 = imagem do campo microscópico corado em P.A.S., marcando a área ocupada por glicogênio. C2 = negativo da imagem C1. As setas indicam a área marcada pelo software.

Figure 6 – Procedure to image analysis (morphometry) of fish liver detailing by Image Pro Plus 4.5[®] software. A1 = microscopic field image stained with HE A2 = A1 negative image marking the center lobular vein area. B1 = microscopic field stained with HE marking the area occupied by sinusoids, nuclei and nucleoli. B2 = B1 negative image. C1 = microscopic field image stained with PAS, marking the area occupied by glycogen. C2 = C1 negative image. The arrows indicate the area marked by the software.

Resultados e Discussão

Os parâmetros físico-químicos da água de cultivo permaneceram dentro dos valores recomendados para o cultivo de peixes (Boyd, 1990; Sipaúba - Tavares, 1995) e para o bom desenvolvimento da espécie (Popma & Phelps, 1998).

A temperatura da água apresentou picos mínimos e máximos de 24,5 e 33,0 °C, com médias de 26,7±1,0 e 30,2±1,2 °C, respectivamente. Este parâmetro físico-químico é um dos mais influentes no desempenho reprodutivo das tilápias e apesar destes picos, permaneceu durante a maior parte do período experimental entre 26 e 32 °C. Este intervalo de temperatura é semelhante ao mantido experimentalmente por Siddiqui et al. (1998) e é considerado ideal para a reprodução de tilápias (Bhujel, 2000; Little & Hulata, 2000).

A concentração média de oxigênio dissolvido na água durante o período experimental foi de $6,11 \pm 1,05 \text{ mg.L}^{-1}$. Estes níveis de oxigênio são adequados, haja vista que, concentrações mínimas necessárias para o bom desempenho reprodutivo de fêmeas desta espécie são acima de $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$, ao amanhecer (Little & Hulata, 2000).

Os valores médios de pH da água foram $7,50 \pm 0,09$ pela manhã e $9,33 \pm 0,06$ pela tarde, intervalo este considerado adequado para o crescimento da espécie (Little & Hulata, 2000; Ross, 2000).

Não existem informações indicando qual o nível de oxigênio adequado para reprodutores machos corresponde aos das fêmeas e, se o intervalo de pH adequado para o crescimento também corresponde para a reprodução (Bhujel, 2000).

Os níveis de energia digestível da ração causaram efeito ($P < 0,05$) sobre a concentração espermática (Tabela 7 e Figura 7) e percentual de espermatozoides normais (Tabela 7 e Figura 8).

Tabela 7 – Desempenho reprodutivo de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.

Table 7 – Reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) male, submitted to different levels of digestible energy in the ration.

Variáveis Variable	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) Digestible energy (kcal.kg of ration ⁻¹)					P
	2.700	2.950	3.200	3.450	3.700	
Volume médio de sêmen (mL) Mean seminal volume (mL)	0,47	0,244	0,37	0,26	0,19	0,19
Volume relativo de sêmen ($\mu\text{L.g}^{-1}$) Relative seminal volume ($\mu\text{L.g}^{-1}$) ¹	1,89	1,02	1,37	0,98	0,73	0,11
pH seminal Seminal pH	7,53	7,61	7,49	7,70	7,53	0,83
Concentração espermática (espermatozoides $\times 10^9 \text{ mL}^{-1}$) Spermatic concentration (spermatozoa $\times 10^9 \text{ mL}^{-1}$)	3,08	3,80	5,21	8,19	6,17	0,01
Espermatozoides normais (%) Normal spermatozoa (%)	23,76	28,63	29,93	39,07	29,65	0,00
Espermatozoides anormais (%) Abnormal spermatozoa (%)						
Anormalidade primária (%) Primary abnormality (%)	65,60	61,84	59,57	51,35	54,20	0,11
Anormalidade secundária (%) Secondary abnormality (%)	10,64	9,53	10,50	9,59	16,15	0,57
Tempo de ativação espermática (s) Time of spermatic activation (s)	52,59	45,62	45,79	47,30	55,20	0,58
Índice de sobrevivência espermática (%) Spermatic survival index (%)	97,36	97,35	98,01	96,76	97,21	0,76

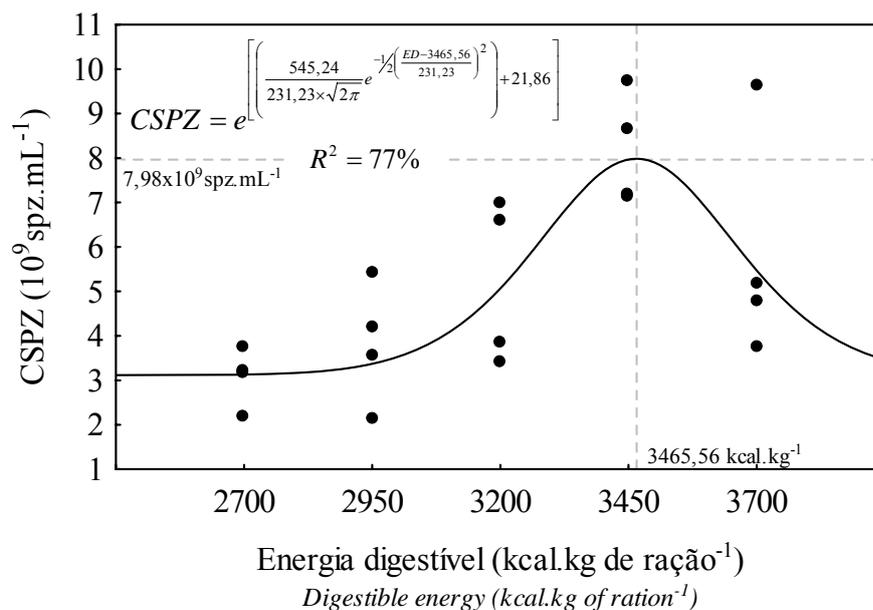


Figura 7 – Concentração espermática em sêmen de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível. CSPZ = Concentração espermática; spz = espermatozóides; ED = energia digestível.

Figure 7 – Spermatic concentration in semen of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) submitted to different levels of digestible energy in the ration. CSPZ = spermatic concentration; spz = spermatozoa; ED = digestible energy.

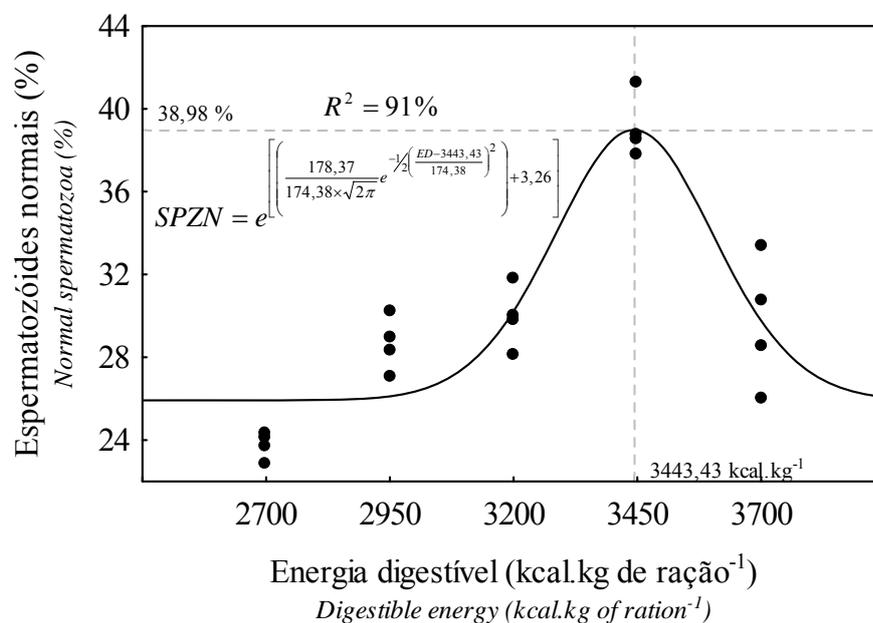


Figura 8 – Espermatozóides normais em sêmen de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível. SPZN = espermatozóides normais; ED = energia digestível.

Figure 8 – Normal spermatozoa in semen of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) submitted to different levels of digestible energy in the ration. SPZN = normal spermatozoa; ED = digestible energy.

O modelo ajustado pela análise de regressão múltipla da variável concentração espermática sugere que o resultado teórico de máximo desempenho reprodutivo seja alcançado para reprodutores alimentados com rações contendo 3.465,56 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹, produzindo 7,98x10⁹ espermatozoides.mL de sêmen liberado⁻¹ (Figura 7). A mesma análise sugere que rações contendo 3.443,43 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹ proporcionem um máximo índice de normalidade espermática de 38,98% (Figura 8).

As análises histológicas também evidenciaram efeito dos tratamentos (P<0,05), apresentando uma relação diretamente proporcional entre os níveis de energia digestível das rações e percentual de inclusão lipídica nos hepatócitos (Figura 9).

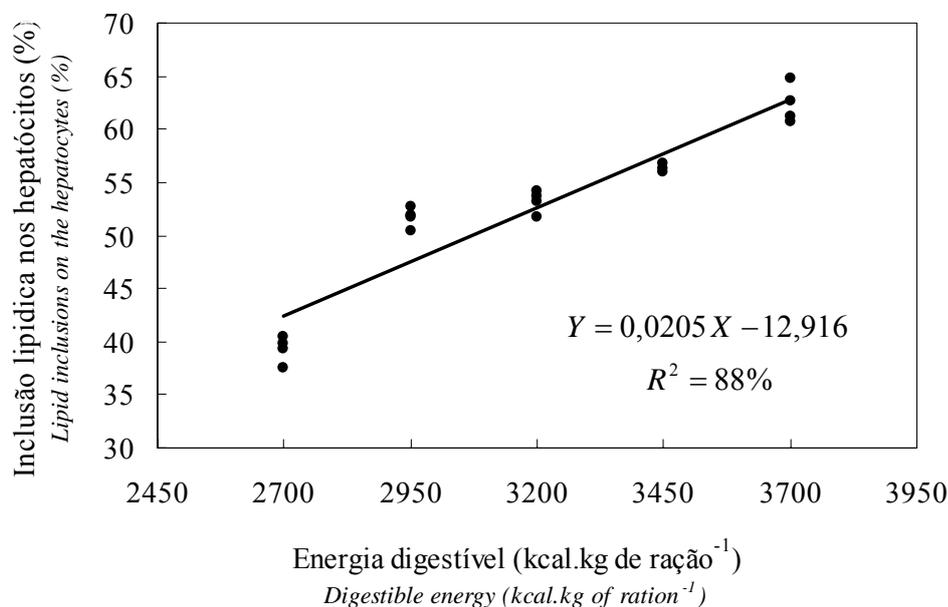


Figura 9 – Área percentual de inclusão por lipídeos em hepatócitos de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível.

Figure 9 – Percentage area of inclusion by lipids on hepatocytes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) males, submitted to different levels of digestible energy in the ration.

Asturiano et al. (2001) verificaram aumento significativo na produção de sêmen, percentual de machos em espermição, concentração e motilidade espermática em reprodutores de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*), alimentados com rações contendo menores relações n-3:n-6. Eles sugerem que melhores resultados para machos podem ser alcançados com dietas suplementadas com ácidos graxos do grupo n-6.

Provavelmente, o elevado nível de energia e de ácidos graxos poliinsaturados, provenientes das rações experimentais, neste trabalho, tenham levado ao estímulo de células espermatogênicas. Isto foi verificado em suínos (Oliveira Silva et al., 1998), levando-se em conta o aumento da produção e da normalidade de células espermáticas.

Cerdà et al. (1997) também constataram influência dos ácidos graxos poliinsaturados sobre o desempenho reprodutivo de machos de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*). Durante duas estações reprodutivas consecutivas, houve o aumento nos percentuais de machos em espermiacão e dos níveis plasmáticos do andrógeno 11–cetotestosterona, hormônio esteróide, de fundamental importância para a espermatogênese e formação do esperma (Redding & Patiño, 1993; Baldisserotto, 2002), especialmente, pela sua influência na produção da activina B, indutora da proliferação das espermatogônias (Van Der Kraak et al., 1997).

O aumento dos níveis energéticos das rações do presente experimento foi obtido em consequência da adição do óleo de soja. Por ser de origem vegetal, este óleo possui pequenas quantidades dos ácidos graxos eicosapentaenóico e docosahexaenóico (Figueiredo-Silva et al., 2005), porém, grandes quantidades do ácido graxo linoléico, chegando de 51 a 64% de 18:2(n-6) (NRC, 1993).

O ácido graxo linoléico pode ser perfeitamente convertido por peixes de água doce em 20:4(n-6) ou ácido araquidônico (Caballero et al., 2004; Ruyter et al., 2006), o precursor das prostaglandinas da série II (Sargent, 1995). As prostaglandinas da série II apresentam importância para a esteróidogênese em machos, haja vista, que estudos *in vitro* têm demonstrado que o ácido araquidônico é estimulador da produção de testosterona em testículos de “goldfish”, a partir da ação da prostaglandina da série II (Izquierdo et al., 2001). Além disso, estudos sobre a substituição do óleo de peixe pelo óleo de soja em rações para o salmão do atlântico (*Salmo salar*), evidenciaram que dietas suplementadas com 100% de óleo de soja apresentam maiores quantidades de 20:4 (n-6) no fígado e intestino, provavelmente devido à dessaturação e alongamento do 18:2 n-6 (Ruyter et al., 2006).

A redução dos valores de concentração e da normalidade espermática (Figuras 7 e 8) com os baixos níveis de energia da ração, a exemplo destes efeitos em mamíferos, pode ter relação com a redução da resposta dos testículos às gonadotrofinas (Ferrel, 1991). Por outro lado, esta redução com elevados níveis de energia da ração, possivelmente, não está associada à limitação da ingestão da ração ou à saciedade (Pezzato et al., 2004), levando a consequente redução do consumo de nutrientes (Bhujel,

2000). Isto está baseado no fato do desempenho zootécnico (Tabela 8) dos animais não ter sido afetado ($P>0,05$) pelas rações.

A redução da concentração e da normalidade espermática (Figuras 7 e 8) pode estar associada a possíveis efeitos de perda de energia metabólica e até mesmo de toxicidades pelo excesso de energia presente nas rações em função da inclusão de óleo de soja. Esta hipótese pode ser corroborada pelos resultados das análises histológicas dos fígados dos machos (Figura 9), onde o aumento dos níveis de energia nas rações promoveu o aumento ($P<0,05$) da deposição de lipídeos nos hepatócitos.

Tabela 8 – Desempenho zootécnico de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), alimentados com rações contendo diferentes níveis de energia digestível na ração.

Table 8 – Growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) males, submitted to different levels of digestible energy in the ration.

Variáveis Variable	Energia digestível (kcal.kg de ração ⁻¹) Digestible energy (kcal.kg of ration ⁻¹)					P
	2700	2950	3200	3450	3700	
Peso inicial médio (g) Initial mean weight (g)	145,00	143,90	147,70	146,2	147,5	0,08
Comprimento padrão inicial (cm) Initial standart length (cm)	15,85	15,83	15,85	15,85	16,00	0,10
Peso final médio (g) Final mean weight (g)	198,60	206,90	198,10	199,80	215,87	0,50
Comprimento padrão final (cm) Final standart length (cm)	17,88	18,00	17,73	17,88	18,23	0,68
Ganho de peso médio (g) Mean weight gain (g)	11,50	18,10	16,50	13,70	17,73	0,65
Ganho de peso médio diário (g.dia ⁻¹) Mean daily weight gain (g.day ⁻¹)	0,68	1,06	0,97	0,81	1,04	0,65
Conversão alimentar aparente (g.g ⁻¹) Apparent feed conversion (g.g ⁻¹)	3,13	1,80	2,27	2,40	2,22	0,41
Índice hepatossomático (%) Hepatosomatic index (%)	1,49	1,43	1,74	1,52	1,45	0,06
Índice gonadossomático (%) Gonadosomatic index (%)	0,86	1,02	0,87	0,76	0,87	0,43
Índice viscerossomático (%) Visceralssomatic index (%)	4,89	5,25	4,93	4,80	3,75	0,83

Caballero et al. (2004) estudaram os efeitos da substituição do óleo de peixe pelo de soja em rações para “sea bream” (*Sparus aurata* L.) e, verificaram que o uso de maiores níveis de óleo de soja nas rações, provocaram alterações histológicas do tecido hepático, especialmente, quanto ao aumento do volume de inclusão de lipídeos e a ocorrência de quadros clínicos de esteatose nos hepatócitos. Ruyter et al. (2006) também verificaram efeitos semelhantes em salmão do atlântico (*Salmo salar*).

A inclusão lipídica nos hepatócitos, na forma de vacúolos lipídicos, pode levar à redução da indução da oxidação em fígados de “sea bream” (Caballero et al., 2004). Desta forma, animais que apresentassem estes quadros, possivelmente, poderiam promover a perda ou redução da disponibilidade de energia metabólica.

Por outro lado, a substituição do óleo de peixe pelo óleo de soja, em rações para juvenis de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mikiss*) em até 50%, não causaram evidências de alterações histológicas do fígado (Figueiredo-Silva et al., 2005). Isto sugere que, possivelmente, estes efeitos sofrem variações intra e inter específicas.

Quanto ao percentual de espermatozóides anormais, não foi evidenciado efeito dos tratamentos ($P>0,05$) para os índices de anormalidades espermática primária e secundária (Tabela 7). Os resultados de anormalidade foram bastante elevados em todos os tratamentos, variando de 51,35 a 65,60% e de 9,53 a 16,15% para as anormalidades primárias e secundárias, respectivamente (Tabela 7). Dentre todas as anormalidades observadas, as mais freqüentes foram cauda quebrada, cauda enrolada e cauda dobrada.

Índices de anormalidade espermática recomendados para a inseminação artificial ou monta natural, em mamíferos, é de no máximo 30% (CBRA, 1998). Entretanto, estes valores não estão estabelecidos para o adequado sucesso da fertilização natural ou artificial de peixes (Moraes et al., 2004).

As anormalidades espermáticas têm sido relacionadas com a infertilidade ou esterilidade na maioria das espécies de mamíferos (Mortimer, 2000; Chenoweth, 2005, Collodel & Moretti, 2006). Especulações neste sentido são feitas quanto à fertilização em peixes (Kavamoto et al., 1999), mas não são conclusivas.

Estudos da morfologia espermática em peixes têm apresentado resultados variados quanto aos índices de normalidade/anormalidade. Kavamoto et al. (1999) verificaram índices de anormalidades totais de 9,54%. Moraes et al. (2004) encontraram índices de normalidade espermática de 53,3 a 64,2% para a carpa comum (*Ciprinus carpio*), de 31,2 e 51,0% para o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e de 55,9 a 59,8%, para o curimba (*Prochilodus lineatus*). Streit Jr. et al. (2006), em estudos de criopreservação, verificaram que o sêmen do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) *in natura* apresentava índices de 20,39±1,26%, 36,15±1,49% e 43,46±1,43% para espermatozóides normais, com anormalidades primárias e secundárias, respectivamente.

Neste estudo, os índices de sobrevivência espermática não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$), mas os valores permaneceram relativamente elevados, variando

de 96,76 a 98,01% (Tabela 7). Este parâmetro pode ser utilizado para avaliar a qualidade do sêmen produzido, pois, este parâmetro apresenta relação direta com a motilidade espermática (Kavamoto & Fogli da Silveira, 1986; Bombardelli et al., 2006). De acordo com Coward et al. (2002), a motilidade espermática é um fator que indica a qualidade do sêmen, mesmo que as taxas de fertilização sejam mais conclusivas.

A tilápia-do-Nilo apresenta o mecanismo de inativação espermática através da composição seminal por glicoproteínas de elevado peso molecular (Coward et al., 2002). Assim, após o início da ativação dos espermatozóides em meio hipotônico, a motilidade espermática reduz, de modo irreversível, ao longo do tempo (Billard et al., 1995; Rana, 1995). Um dos mecanismos que controla a ativação e o tempo de ativação espermática é o pH seminal (Coward et al., 2002). Tanto o pH seminal, quanto o tempo de ativação espermática não apresentaram efeito ($P>0,05$) entre os tratamentos e seus resultados variaram de 7,53 a 7,70 e de 45,62 e 55,20 s, respectivamente (Tabela 7). Estes resultados de tempo de ativação são consideravelmente superiores as outras espécies como a truta arco-íris de 20 a 25 s (Izquierdo et al., 2001).

Exceto pelos resultados de morfologia espermática, os elevados resultados dos parâmetros de qualidade seminal (Tabela 7) do presente experimento, sugerem que os tratamentos não levaram a perda da capacidade de fertilização dos espermatozóides.

Os valores médios de peso final, de comprimento padrão final, dos ganhos de peso e de peso médio diário e de conversão alimentar aparente, não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos. Contudo, os resultados variaram de 198,10 a 215,87 g; de 17,73 a 18,23 cm, de 11,50 a 18,10 g, de 0,68 a 1,06 g e de 1,80 a 3,13 g.g^{-1} , respectivamente (Tabela 8).

Os resultados de desempenho zootécnico foram esperados, uma vez que, o manejo alimentar adotado foi adequado para o bom desempenho reprodutivo da espécie (Bhujel, 2000; Bhujel et al., 2001) e não para o crescimento. Isto pode ser verificado também pelos valores de conversão alimentar aparente (Tabela 8) que foram elevados (1,80 a 3,13 g.g^{-1}), porque os reprodutores de tilápia destinam grande parte das reservas energéticas a reprodução (Turner & Robinson, 2000).

Asturiano et al. (2001) e Vassalo-Agius et al. (2001a) também não verificaram efeitos sobre o peso e o comprimento de reprodutores de “sea bass” e de truta arco-íris, respectivamente, alimentados com das rações suplementadas com ácidos graxos.

Os valores médios dos índices hepatossomático, gonadossomático e viscerossomático não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos e, seus resultados

variaram de 1,43 a 1,74%, de 0,76 a 0,87% e de 3,75 a 5,25%, respectivamente (Tabela 8).

Conclusões

Os níveis crescentes de energia nas rações para reprodutores de tilápia-do-Nilo, influenciaram no desempenho reprodutivo, promovendo apenas, o aumento na produção de espermatozóides e dos índices de normalidade da morfologia espermática. Por outro lado, o excesso de energia levou a prejuízos no desempenho reprodutivo, provavelmente, devido ao progressivo acúmulo de lipídios, ocorrido nos hepatócitos, em função do aumento dos níveis de energia das rações.

Literatura Citada

- AL-HAFEDH, Y.S.; SIDDIQUI, A.Q.; AL-SAIADY, M.Y. Effects of dietary protein levels on gonad maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile tilapia. **Aquaculture International**, v.7, p.319–332, 1999.
- ASTURIANO, J.F.; SORBERA, L.A.; CARRILO, M. et al. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA – enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. **Aquaculture**, v.194, p.173–190, 2001.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 211p.
- BARD, J.; ASSUMPÇÃO, L.; SCHAEFFER, L. et al. Emprego de óleo de cravo na indução à anestesia de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPOSIO PARANAENSE DE ENGENHARIA DE PESCA, 2., 2004, Toledo. **Anais...** Toledo: Simpósio Paranaense de Engenharia de Pesca/Gmosis, [2004] (CD-ROOM).
- BHUJEL, R. C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. **Aquaculture**, v.181, p.37–59, 2000.
- BHUJEL, R.C.; YAKUPITIYAGE, A.; TURNER, W.A. et al. Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa – in – pond system. **Aquaculture**, v.194, p.303–314, 2001.
- BILLARD, R.; COSSON, J.; CRIM, L.W. et al. Sperm physiology and quality. In: BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.25–52.
- BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para o tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- BOYD, C.E. **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing Co, 1990. 482p.
- BROOKS, S.; TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.287–416, 1997.
- CABALLERO, M.J.; IZQUIERDO, M.S.; KJORSVIK, E. et al. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus auratus* L., caused by short- or long – term feeding with vegetable oils as the sole lipid source. **Journal of Fish Disease**, v.27, p.531 – 541, 2004.
- CERDÀ, J.; ZANUY, S.; CARRILO, M. Evidence for dietary effects on plasma levels of sexual steroids during spermatogenesis in the sea bass. **Aquaculture International**, v.5, p.473–477, 1997.
- CHENOWETH, P.J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**, v. 64, p.457-468, 2005.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.
- COLLODEL, G.; MORETTI, E. Sperm morphology and aneuploidies: defects of supposed genetic origin. **Journal Compilation**, v.38, p.208-215, 2006.

- COWARD, K.; BROMAGE, N.R.; HIBBITT, O. et al. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.12, p.33–58, 2002.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187–196, 2005.
- EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619–632, 2003.
- FERRELL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In: CUPPS, P.T. (Ed.) **Reproduction in domestic animals**. 4.ed. London: Academic Press, 1991. p.577-604.
- FIGUEIREDO-SILVA, A.; ROCHA, E.; DIAS, J. et al. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.147-155, 2005.
- FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; MONTEIRO, M.; FIGUEIREDO, A. et al. Partial or total replacement of fish meal by plant protein affects gonadal development and plasma 17 β -estradiol levels in female Nile tilapia. **Aquaculture International**, v.8, p.299 – 313, 2000.
- GODINHO, H.P.; AMORIM, V.M.C.; PEIXOTO, M.T.D. Criopreservação do sêmen de tilápia-nilótica *Oreochromis niloticus*, var. Chitralata: Crioprotetores, soluções ativadoras e refrigerador criogênico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p. 1537-1543, 2003.
- HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. 509p.
- HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. et al. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3, p.733-737, 1999.
- IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p.25–42, 2001.
- KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S et al. Anormalidades morfológicas nos espermatozoides do curimatá, *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881) (OSTEICHTHYES, CHARACIFORMES, PROCHILODONTIDAE). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.25, p.61-66, 1999.
- KAVAMOTO, E.T.; FOGLI DA SILVEIRA, W. Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilari* (valenciennes, 1840) em condições de campo. **Boletim do Instituto de Pesca**. v.13, p.95-100, 1986.
- LITTLE, D.C.; HULATA, G. Strategies for tilapia seed production. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **Tilapia: Biology and Exploitation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 2000. p.226–326.
- MACINTOSCH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.277–320.
- MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. et al. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.81-85, 2005.
- MORAES, G.V.; STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P. et al. Ação de diferentes indutores reprodutivos hormonais no aparecimento de anormalidades morfológicas em espermatozoides de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), curimatá (*Prochilodus*

- lineatus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.2, p. 109-116, 2004.
- MORTIMER, D. Sperm preparation methods. **Journal of Andrology**, v.21, n.3, p.357-366, 2000.
- MURGAS, L.D.S.; FRANCISCATTO, R.T.; SANTOS, A.G.O. Avaliação espermática pós-descongelamento em piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Vallenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1810-1814, 2003
- MYLONAS, C.C.; GISSIS, A.; MAGNUS, Y. et al. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRH α delivery system. **Aquaculture**, v.153, p.301-311, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirement of Fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 115p.
- OLIVIERA SILVA, F.C.; DONZELE, J.L.; FONSCECA, C.C. et al. Efeito de energia digestível da ração sobre os parâmetros reprodutivos de suínos machos inteiros e fêmeas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.965-973, 1998.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. (Ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p.75-170.
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p.127-145.
- RANA, K. Preservation of gametes. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.53-75.
- REDDING, J.M.; PATIÑO, R. Reproductive physiology. In: EVANS, D.H. (Ed.) **The Physiology of Fishes**. 1.ed. Boca Raton: CRC Press, 1993. p.503-562.
- RINCHARD, J; MBAHINZIREK, G.; DABROWSKI, K. et al. Effects of dietary cottonseed meal protein level on growth, gonad development and plasma sex steroid hormones of tropical fish tilapia *Oreochromis* sp. **Aquaculture International**, v.10, p.11-28, 2002.
- ROSS, L.G. Environmental physiology and energetics. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **TILAPIAS: Biology and Exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.89-128.
- RURANGWA, E.; KIME, D.E.; OLLEVIER, F. et al. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, v.234, p.1-28, 2004.
- RUYTER, B.; MOYA-FALCÓN, C.; ROSENLUND, G. et al. Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects of temperature and dietary soybean oil. **Aquaculture**, v.252, p.441-452, 2006.
- SALARO, A.L.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Desempenho e espermatogênese de alevinos de tilápia alimentados com farelo ou farinha de semente de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.449-457, 1999.
- SANTIAGO, C.B.; LARON, M.A. Growth and fry production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), on different feeding schedules. **Aquaculture Research**, v.33, p.129-136, 2002.
- SARGENT, J.R. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltd, 1995. p.353-372.

- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HAFEDH, Y.S.; ALI, S.A. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v.29, p.349–358, 1998.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. **Limnologia Aplicada à Aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 70p.
- STREIT JR, D.P.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P. et al. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixe. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.7, n.2, p.157-162, 2004.
- STREIT JR., D.P.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P. et al. Effects of three different sources of pituitary extract on gonadal inducer in male and female pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Acta Scientiarum. Animal Science**, v.27, n.4, p.439-447, 2005.
- STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P.; MORAES, G.V. et al. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotâmicus*) após indução hormonal. **Bioscience Journal**, v.22, n.3, p.119-125, 2006.
- TACON, P.; NDIAYE, P.; CAUTY, C. et al. Relationships between the expression of maternal behavior and ovarian development in the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.146, p.261–275, 1996.
- TAYLORS, P.W.; ROBERTS, S.D. Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.150–155, 1999.
- TURNER, G.F.; ROBINSON, R.L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Ed.) **Tilapias: Biology and Exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.33–58.
- VAN DER KRAAK, G.; CHANG, J.P.; JANZ, D.M. Reproduction. In: EVANS, D.H. (Ed.) **The Physiology of Fishes**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1997. p.465–490.
- VASSALO-AGIUS, R.; IMAIZUMI, H.; WATANABE, T. et al. The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. **Fisheries Science**, v.67, p.260–270, 2001b.
- VASSALO-AGIUS, R.; WATANABE, T.; YOSHIZAKI, G. et al. Quality of eggs and spermatozoa of Rainbow trout fed an n-3essential fatty acid-deficient diet and its effects o the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. **Fisheries Science**, v.67, p.818–827, 2001a.
- VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169p.
- WATANABE, T.; VASSALO-AGIUS, R. Broodstock nutrition research on marine finfish in japan. **Aquaculture**, v.227, p.35–61, 2003.

VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de rações para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), distintas entre fêmeas e machos pode ser uma prática viável, quando for empregado o sistema de manejo reprodutivo em “hapas”, onde é realizada a colheita e incubação artificial dos ovos. Contudo, não é possível afirmar que o nível de energia digestível adequado para promover o máximo desempenho reprodutivo das fêmeas de tilápia, seja diferente aos dos machos, porque, os parâmetros reprodutivos das fêmeas não foram influenciados pelas rações.

O uso de rações para machos de tilápia-do-Nilo, formuladas a base de milho, farelo de soja e óleo de soja, contendo 35 % PB e, entre 3.443,43 e 3.465,56 kcal de energia digestível.kg de ração⁻¹, podem ser empregadas, pois promovem o aumento da produção de espermatozoides e dos índices de normalidades da morfologia espermática.

Estudos futuros voltados a nutrição de reprodutores de tilápia-do-Nilo devem ser realizados, para elucidar os efeitos de outras variáveis, tais como, o período mínimo necessário para garantir o efeito das dietas sobre os parâmetros reprodutivos, exigências de macro e micro nutrientes e as variações das exigências nutricionais entre as diferentes linhagens, desta espécie de peixe, utilizadas comercialmente no Brasil.

APÊNDICE

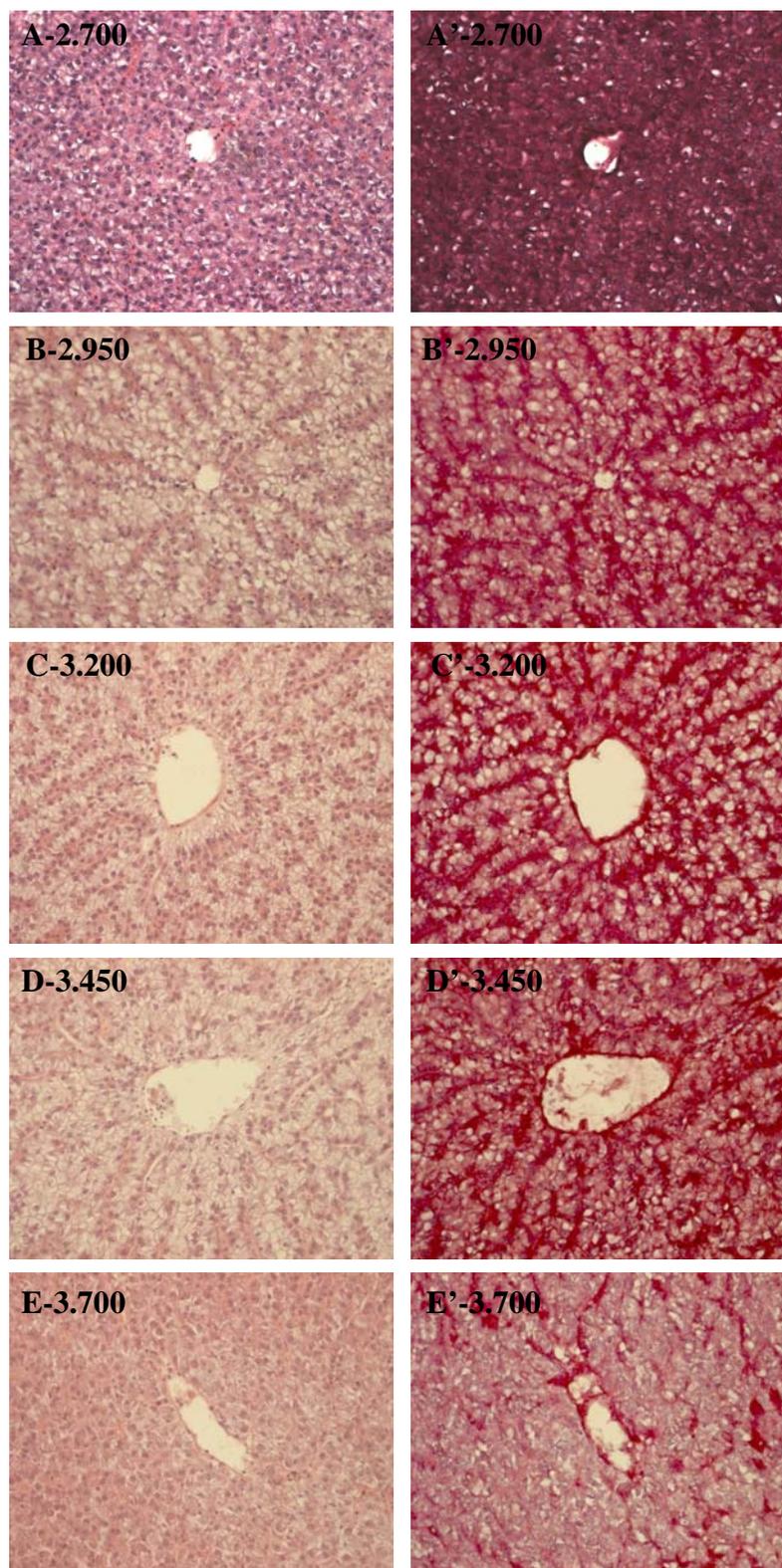


Figura A – Cortes histológicos do tecido hepático de reprodutoras fêmeas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com rações com diferentes níveis de energia digestível (2.700 a 3.700 kcal.kg⁻¹). A-E: Hematoxilina – Eosina. A'-E': Ácido Periódico de Schiff. Imagem capturada com aumento de 40X.

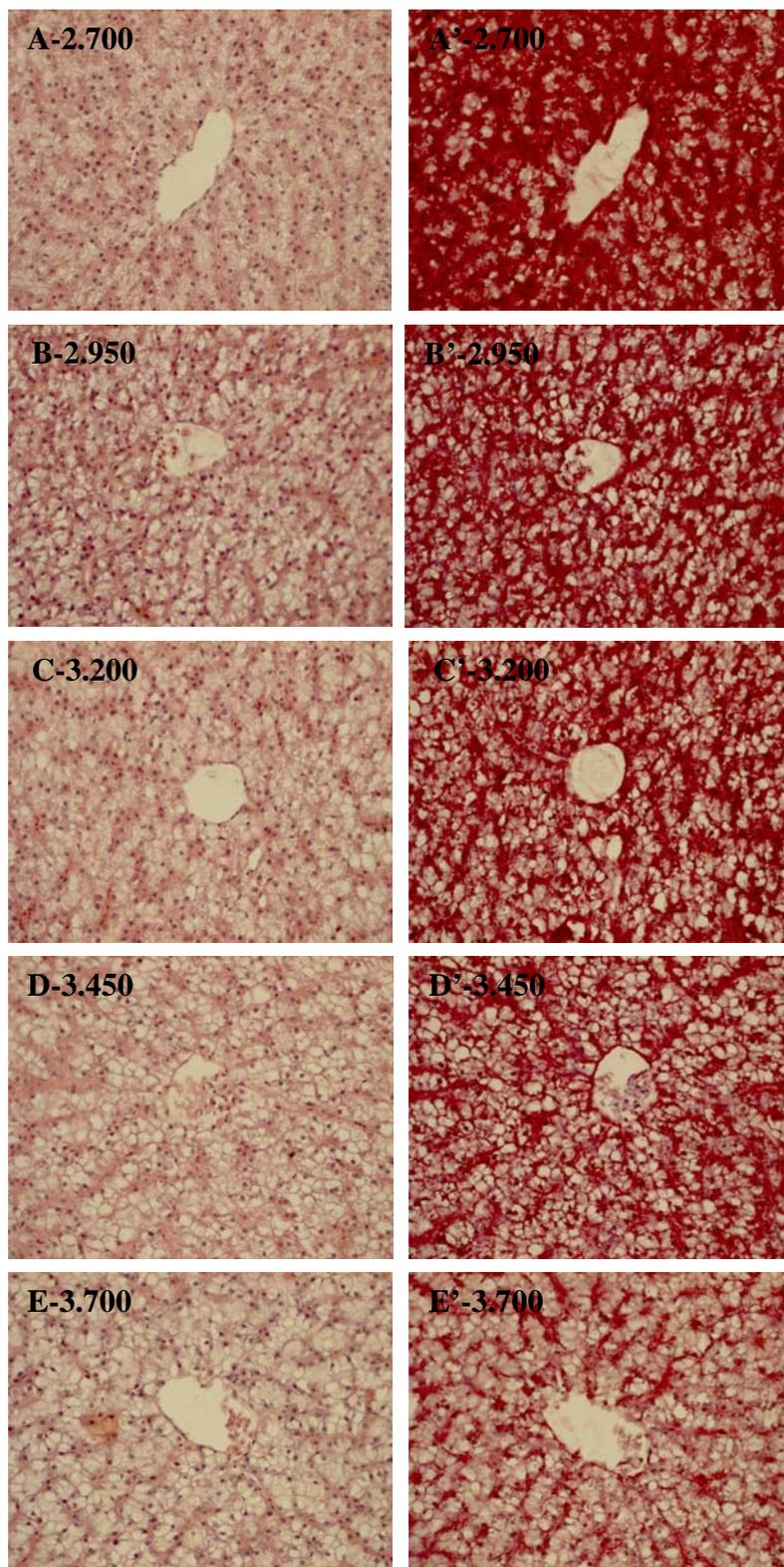


Figura B – Cortes histológicas do tecido hepático de reprodutores machos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com rações com diferentes níveis de energia digestível (2.700 a 3.700 kcal.kg⁻¹). A-E:Hematoxilina – Eosina. A'-E': Ácido Periódico de Schiff. Imagem capturada com aumento de 40X.