



MARINEZ MORAES DE OLIVEIRA

**DIETAS PARA REPRODUTORES DE TILÁPIA
DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

LAVRAS – MG

2012

MARINEZ MORAES DE OLIVEIRA

DIETAS PARA REPRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO
(Oreochromis niloticus)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como Parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Priscila Vieira e Rosa

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Oliveira, Marinez Moraes de.

Dietas para reprodutores de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Marinez Moraes de Oliveira. – Lavras : UFLA, 2012.
95 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Priscila Vieira e Rosa.

Bibliografia.

1. Reprodução. 2. Diâmetro do ovo. 3. Índices somáticos. 4.
Motilidade. 5. Sêmen. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 639.37580416

MARINEZ MORAES DE OLIVEIRA

DIETAS PARA REPRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO
(Oreochromis niloticus)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como Parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 11 de maio de 2012.

Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas	DZO/UFLA
Dr. Luis David Solis Murgas	DMV/UFLA
Dra. Paula Adriane Perez Ribeiro	DMV/UFGM
Dr. Rodrigo Fortes da Silva	CCAAB/UFRB



Dra. Priscila Vieira Rosa
Orientadora

LAVRAS – MG

2012

Aos meus pais, Valdevino e Wanair,
pelo amo incondicional, pelo exemplo de vida e que com simplicidade
ensinaram-me que o mais importante na vida é o crescimento interior... cultivar
amigos sempre... buscar sempre o que se desejar, porque tudo se torna possível
quando se tem vontade e coragem para lutar...
Seus ensinamentos sempre encontrarão lugar em meu coração.

Ao meu sogro

Rubens

A minha sogra

Maria de Lourdes, “in memoriam”

Minhas irmãs; “Lídia, Gessi, Lucimar”,

Meus irmãos; “João Batista e Flávio”

Meus cunhados, minha cunhada,

pelo entusiasmo, que sempre estiveram me apoiando com suas palavras e
exemplos.

Aos Mestres e Doutores

com os quais tive a oportunidade de conhecê-lo e conviver durante o curso, a
você que se dedica com amor à profissão que abraçou, pois desde cedo queria ter
um espaço na vida e ser um grande professor. Muito obrigada pelo que foi me
transmitido por vocês.

Aos meus queridos sobrinhos,

“Felipe, Matheus, Douglas, Vinícius e Fernanda”, pelo carinho.

À Maria Júlia, Maria Clara, João Gabriel,

pela confiança e amizade.

OFEREÇO

A minha Orientadora

Profa. Dra. Priscila Vieira Rosa

Poucas foram às oportunidades que tive para agradecer-lhe por tão grandioso trabalho.

Neste momento de em que concluo o doutorado, no qual celebro o final de uma longa etapa, aproveito para agradecer a você, pela orientação, dedicação e ensinamentos transmitidos, pelas experiências acadêmico-científicas e de vida que com certeza serão, de grande valia para minha vida. Agradeço a confiança em mim depositada, a atenção, amizade ou pelo simples convívio, de me apontar o caminho.

Ao meu grande amigo e esposo Luciano,

pelo amor incondicional, pelo apoio constante nos momentos difíceis, pela compreensão durante minha ausência e especialmente por tanta dedicação e carinho em cada momento de convívio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que com tua suprema bondade e infinita misericórdia que tem me guiado, por caminhos retos e seguros;

À Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Veterinárias, pela oportunidade de realização o meu doutorado e aprimorar meus conhecimentos;

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Ciência Animal/CNPq, (INCT-CA), pelo apoio a esta pesquisa;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo;

À Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás Furnas, pelo apoio e parceria na execução deste estudo;

À Profa. Dra. Priscila Vieira Rosa, pelo apoio, orientação e sugestões durante a execução do projeto os meus sinceros agradecimentos;

A Profa. Dra. Paula Adriane Perez Ribeiro, por ter aceitado ser minha co-orientadora, pela amizade e pelas valiosas sugestões no aprimoramento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Luis David Solis Murgas, por ser meu coorientador, pela amizade, apoio e incentivo desde o início do curso e pelas sugestões neste trabalho;

Ao Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pela amizade, apoio, pelas análises dos dados experimentais, pela experiência e também pelas importantes sugestões dadas por ocasião da qualificação e defesa;

Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva, pela amizade e pelas suas importantes sugestões dadas ao meu trabalho na ocasião da qualificação e defesa;

Ao Sr. Dirceu Marzulo Ribeiro, gerente da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura – Eletrobrás Furnas, pela disponibilidade e apoio que foi fundamental na condução do experimento de campo;

A Prof. Dra. Maria Emília Sousa Gomes Pimenta, pela coorientação, pela sua amizade, pelos conselhos e pela sua humildade que guardarei por toda vida;

Ao Dr. Galileu Crovatto Veras, pela amizade e pelas sugestões ao meu trabalho no momento da qualificação;

Ao Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo, pela atenção e confiança;

Aos docentes, pela compreensão e apoio;

Aos técnicos e funcionários da UFLA, pela dedicação que auxiliaram na realização das análises laboratoriais e por sempre ter me ajudado durante alguns imprevistos;

Aos funcionários da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás Furnas, pela disponibilidade durante os trabalhos de campo;

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UFLA, Eledi e José Roberto pelos momentos de alegria e amizade;

Ao funcionário da Secretária do curso de pós-graduação do DMV, Berin, por sua atenção e prestatividade;

As biólogas, Taína e Cibele, na época estagiárias da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás Furnas, pela amizade e apoio na condução do trabalho de campo;

Aos meus amigos, Henrique, Maria Conceição e Matheus, pelo apoio e pela amizade mantida desde os tempos de mestrado;

As famílias Sousa Gomes e Pimenta, pelo apoio, carinho, amizade e pelos bons momentos de convívio;

Aos amigos, Marcília, Mônica, Mariana, Dênio, Galileu, Ulisses e Matheus, pela amizade e companheirismo;

Aos meus amigos e colegas dos cursos de graduação e Pós-Graduação dos Departamentos de Zootecnia, Medicina Veterinária e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, pela amizade e alegria nos momentos de convívio;

A todos meus familiares; minha avó Nena, aos tios, tias, primos, primas, amigos e amigas, pela amizade esta que nem a distância separa...

Aos meus amigos do AQUÁRIO juntamente com as respectivas famílias de “Priscila, Rilke, Rodrigo, Felipe, Daniel, Leandro, Martha, Tamira, Renan, Diego, Raquel”, pela amizade, pelos bons momentos de convívio, onde passam horas divertidíssimas;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para meu desenvolvimento científico e realização deste trabalho.

Meu muito Obrigada!!!

Acima de tudo o amor

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e **não tivesse amor**, de nada adiantaria.

E ainda que tivesse o dom de profecia, e **conhecesse todos os mistérios e toda a ciência**, e ainda que tivesse toda fé, de maneira tal que transportasse os montes, e **não tivesse amor**, nada seria.

E ainda que distribuísse todos os meus bens para sustento dos pobres, e ainda que entregasse o meu corpo para ser queimado, e **não tivesse amor**, nada disso me adiantaria. (1 Coríntios Cap. 13 1-3.)

“A um homem nada se pode ensinar.

Tudo que se pode fazer é ajudá-lo a se encontrar.” (Galileu Galilei)

RESUMO

O trabalho foi realizado com objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB). Foram utilizados 240 reprodutores com idade média de 30 meses, os mesmos foram estocados em quarenta tanques de alvenaria com uma densidade de seis peixes por tanque, sendo trinta tanques para as fêmeas e dez tanques para os machos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e seis repetições, onde os tratamentos consistiam de cinco rações com diferentes níveis de PB (32, 34, 36, 38, 40%) e com uma relação de energia digestível por grama de proteína de 9,5/kg de ração. Os níveis de PB influenciaram positivamente ($p < 0.05$) nos parâmetros reprodutivos, índices somáticos, taxas de proteína total do plasma, albumina e triglicérides das fêmeas. Para parâmetros reprodutivos dos machos como: índices somáticos, taxa e duração da motilidade espermática do sêmen in natura de machos não foram influenciados ($p > 0.05$) pelos níveis de proteína bruta (PB). Porém ração com nível de PB de 36% apresentou taxa de motilidade média semelhante ($p > 0,05$) aos tratamentos com 32, 34 e 40% de PB e taxa de motilidade média inferior ($p < 0,05$) ao tratamento com 38% de PB. Para a variável duração da motilidade os peixes alimentados com 38% e 40% de PB apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) apenas com o grupo de peixes alimentados com 34% de PB. Observou-se também, que os níveis de 32, 38 e 40% de PB na ração não deterioraram a qualidade do sêmen e podendo ser utilizados na ração de reprodutores de tilápia. De modo geral, os resultados deste estudo indicam que a dieta formulada com 38% de PB com uma relação de ED/g de PB de 9,5 foi a melhor dieta durante o período reprodutivo para fêmeas. E proporcionou uma maior motilidade e duração de motilidade no sêmen diluído.

Palavra-chave: Tilápia. Reprodução. Diâmetro do ovo. Índices somáticos. Motilidade. Sêmen. Reprodutores.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the reproductive performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock, fed diets containing different levels of crude protein (CP). 240 Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock were used, with average age of 30 months. The broodstock were lodged in forty masonry with the density of six fishes per tank. Thirty tanks for the females and ten tanks for the males in completely randomized design, consisting of five treatments and six replications, in which treatments consisted of five diets with different crude protein levels (32, 34, 36, 38, 40%) and digestible energy per gram of protein of 9.5/kg of feed. The levels of crude protein (CP) positively influenced ($p < 0.05$) the female's reproductive parameters, somatic indexes, total plasmatic protein ratio, albumin and triglycerides. For the male's reproductive parameters, such as: somatic indexes, rate and duration of sperm motility in male's *in natura* semen were not influenced ($p > 0.05$) by the crude protein levels. However, diet with crude protein level of 36% presented average motility rate similar ($p > 0.05$) to the treatments with 32, 34 and 40% CP and average motility rate inferior ($p < 0.05$) to the treatment with 38% CP. For the duration of motility variable, the fish fed with 38% and 40% CP presented significant difference ($p < 0.05$) only with the group of fish fed 34% CP. It was also observed that 32, 38 and 40% CP levels in the diet did not deteriorate the quality of the semen and may be used in the diet of tilapia broodstock. Overall, the results of this work indicate that the diet formulated with 38% CP with digestible energy per gram of CP of 9.5 was the best diet during the female's reproductive period, and enabled better motility and motility duration in the diluted semen.

Key words: Tilapia. Reproduction. Egg diameter. Somatic indexes. Motility.Semen. Broodstock.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1	Síntese da vitellogênina em peixes.....	32
----------	---	----

SEGUNDA PARTE - ARTIGO 1

Figura 1	Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás/Furnas.....	46
Figura 2	Fecundidade Absoluta das fêmeas alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	55
Figura 3	Fecundidade Relativa das fêmeas alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	55
Figura 4	Diâmetros dos ovos das fêmeas tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	57
Figura 5	Diâmetros dos ovos das fêmeas tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	58
Figura 6	Capacidade de sobrevivência das larvas provenientes de fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	59
Figura 7	Índice Viscerosomático (IVS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	61
Figura 8	Índice Hepatosomático (IHS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	62
Figura 9	Índice Gonadosomático (IGS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	63
Figura 10	Proteína total do plasma de tilápias alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta.....	67

Figura 11 Triglicerídeos plasmáticos de tilápias alimentadas com dietas
contendo diferentes níveis de proteína bruta 68

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Tabela 1	Ingredientes e composição calculada das dietas experimentais fornecidas às fêmeas de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) (com base na matéria seca).....	48
Tabela 2	Média dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta na dieta	54
Tabela 3	Parâmetros sanguíneos de fêmeas de tilápia alimentadas com dietas com diferentes níveis de proteína bruta (%)	65

ARTIGO 2

Tabela 1	Ingredientes e composição calculada das dietas experimentais fornecidas aos machos de Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) (com base na matéria seca).....	83
Tabela 2	Índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), taxa de motilidade (MOT) e duração da motilidade (DUR) espermática do sêmen <i>in natura</i> de reprodutores de tilápia submetidos à alimentação com diferentes níveis de proteína bruta	88
Tabela 3	Médias da motilidade (%) e duração da motilidade (s) após a diluição do sêmen de tilapias alimentadas com diferentes níveis de proteína e com diferentes crioprotetores	90

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 18
2	REFERENCIAL TEÓRICO 20
2.1	Tilapicultura 20
2.1.1	Nutrição e reprodução 22
2.1.2	Proteína na Nutrição de Reprodutores 24
2.1.3	Parâmetros hematológicos em peixes 30
2.1.4	Vitelogênese e Vitelogenina 31
	REFERÊNCIAS 34
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS 42	
ARTIGO 1 Níveis de proteína bruta sobre os parâmetros de desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) 42	
1	INTRODUÇÃO 44
2	MATERIAL E MÉTODOS 46
2.1	Local 46
2.2	Material biológico e instalações 46
2.3	Delineamento experimental 47
2.4	Dietas experimentais 47
2.5	Parâmetros limnológicos 48
2.6	Manejo experimental 49
2.7	Acasalamento, coleta e incubação dos ovos 49
2.8	Coleta de sangue e análises sanguíneas 50
2.9	Análises estatísticas 51
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO 53
3.1	Qualidade da água 53
3.2	Parâmetros reprodutivos 53
3.3	Parâmetros Sanguíneos 65
4	CONCLUSÃO 70
	REFERÊNCIAS 71
ARTIGO 2 Efeitos dos níveis de proteína bruta sobre a qualidade espermática de reprodutores de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) 77	
1	INTRODUÇÃO 80
2	MATERIAL E MÉTODOS 82
2.1	Local 82
2.1.1	Animais e dietas 82
2.1.2	Parâmetros limnológicos 84
2.1.3	Metodologia experimental 84

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
3.1	Qualidade da água	88
3.1.1	Índices Reprodutivos	88
4	CONCLUSÃO	92
	REFERÊNCIAS	93

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é o setor da produção animal de maior crescimento no mundo nos últimos cinco anos e desde então a produção de pescado no Brasil vem apresentando altas taxas de crescimento anuais. Esse crescimento deve-se à percepção de que o ambiente aquático é um grande sistema de produção e sua utilização tem por estímulo o aumento da população e a crescente demanda por alimento com alto valor agregado no mercado consumidor. Para atender a esse crescimento e a intensificação cada vez maior dos sistemas de cultivo nos últimos anos, muitas pesquisas são necessárias para tornar a produção cada vez mais eficiente e sustentável.

A aquicultura economicamente viável depende, em grande parte, de um fornecimento confiável de ovos férteis e de alevinos. Ambos podem ser produzidos por reprodutores mantidos em condições de regimes nutricionais adequados. Com isso é imprescindível que se encontrem formas de melhorar a nutrição dos reprodutores de peixes para conseguir ovos, larvas e maiores índices reprodutivos e, com isso, aumentar a produção e disponibilização de larvas e alevinos, que hoje, são fatores limitantes para o desenvolvimento da aquicultura.

A nutrição tem um papel relevante na aquicultura, uma vez que a maior parte dos custos de produção da piscicultura se deve aos gastos com ração sendo a proteína o nutriente que mais onera os custos de produção em uma ração comercial.

Estudos têm indicado que reprodutores de tilápia requerem cerca de 30 a 40% de proteína dietética para melhor desempenho reprodutivo e eclodibilidade de ovos. Com isso conhecimento da exigência nutricional dos peixes é um dos

pontos mais importantes para a formulação de dietas equilibradas e de baixo custo além de diminuir a excreção de nitrogênio no corpo de água. A nutrição de reprodutores é uma das áreas menos estudadas e às vezes controversa, devido à complexidade para a realização dos experimentos.

Entretanto com a importância cada vez maior que vem sendo atribuída à aquicultura, faz-se necessário que os produtores de peixes aprimorem-se nas técnicas necessárias de forma a assegurar o êxito para aumentar a produção de peixes. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de dietas com diferentes níveis de proteína sobre os parâmetros de desempenho reprodutivo de reprodutores de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tilapicultura

Enquanto muitos estoques pesqueiros naturais já se encontram em seu limite máximo de exploração, a produção de pescado pela aquicultura tem aumentado muito nos últimos anos, principalmente para atender à demanda crescente do mercado (BOSMA; VERDEGEM, 2011).

A produção mundial de pescado proveniente tanto da pesca extrativa quanto da aquicultura atingiu aproximadamente 146 milhões de toneladas em 2009 e 142 milhões de toneladas em 2008, o Brasil, neste contexto, contribuiu com 1.240.813 t em 2009, representando 0,86% da produção mundial de pescado (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2010).

O Brasil é um dos países com grande potencial para expansão da aquicultura, pois possui uma das maiores faixas costeiras do mundo com mais de 8.500 km de extensão e abrangendo uma área superior a 3.5 milhões de km² de zona econômica exclusiva.

O Brasil também é o detentor da maior quantidade de água doce com potencial para a aquicultura continental no mundo, com um clima extremamente favorável ao desenvolvimento e crescimento de organismos aquáticos que poderão suprir a demanda crescente por pescado.

O Brasil possui um grande número de espécies nativas com potencial para exploração aquícola (OSTRENSKY; BORGHETTI; PEDINI, 2000), entretanto, a falta de aporte científico e tecnológico não permite a viabilidade econômica da utilização destas, o que faz com que as espécies exóticas predominem nos cultivos comerciais. Dentre as espécies exóticas comercialmente cultivadas, a tilápia ocupa uma posição de destaque.

Elas se destacam por apresentar excelentes qualidades para o cultivo devido ao seu rápido crescimento, rusticidade, carne de excelente qualidade com boa aceitação no mercado e boa conversão alimentar (RIGHETTI et al., 2011), alta prolificidade, maturidade sexual precoce, desova durante todo o ano, a alta fecundidade com 100 a 3000 ovos produzidos por desovas (DUPONCHELLE; LEGENDRÉ, 1997; ZANARDI, 2011), com diâmetro entre 2 mm e 7,9 mm (GRAAF; GALEMONI; HUISMAN, 1999).

O descanso reprodutivo da espécie entre desovas é influenciado pela linhagem, tamanho do peixe, densidade de estocagem, proporção macho/fêmea, estado nutricional, condições de cultivo e fatores ambientais (EL-SAYED, 2006). A recrudescência do ovário é muito rápida; após a desova os ovócitos pré-vitelogênicos são recrutados para vitelogênicos, tornando-se maduros, prontos para serem liberados, exigindo do organismo elevadas taxas metabólicas para suportar a rápida formação do ovócito, garantindo a produção de ovos e larvas de qualidade com bom desempenho produtivo. Estima-se que todo esse processo ocorre em uma semana (COWARD; BROMAGE, 2000). Estudos indicam que a remoção de ovos e larvas da boca das fêmeas, em intervalo de quatro a cinco dias, acelera a vitelogênese e diminui em 37,5% o período entre as desovas quando comparada a fêmeas que permanecem com os ovos naturalmente (MAIR et al., 1993; TACON et al., 1996).

As tilápias atualmente estão entre as espécies mais cultivadas do mundo, sendo o segundo grupo de peixes de maior importância na aquicultura mundial e é a espécie mais produzida no Brasil.

Segundo levantamento estatístico divulgado pelo MPA em 2011, a produção de tilápia no Brasil apresenta um padrão de crescimento contínuo desde 1994. Entre os anos de 2003 e 2009, a produção de tilápia cresceu 105%, saindo de 64.857,5 t. para 132.957,8 toneladas/ano.

O maior aumento crescimento foi em 2007, quando a produção aumentou 85%, chegando a ultrapassar 130 mil toneladas, ressalta-se que no ano de 2009 houve um crescimento de 20% na produção, chegando a 132.957,8 t, sendo que a tilapicultura representa em torno de 39% da produção de pescado (BRASIL, 2010).

Entre as espécies de peixes mais cultivadas, a tilápia é a que apresenta maior resistência a altas temperaturas, baixa concentração de oxigênio dissolvido, alta concentração de amônia na água, sendo capaz de utilizar a produtividade primária dos viveiros, além de possuir características que permitem sua utilização em ensaios científicos devido às facilidades de manejo e de reprodução ao longo do ano (POPMA; PHELPS 1998).

Estas qualidades somadas ao aprimoramento das tecnologias de manejo fizeram com que a tilapicultura alcançasse posição de destaque no ranking mundial da produção de pescado.

As tilápias podem ser cultivadas em diversos ambientes com água doce, salobra ou marinha, com diferentes pacotes tecnológicos, entretanto, há necessidade de mais informações sobre as exigências nutricionais para os reprodutores.

2.1.1 Nutrição e reprodução

A nutrição tem um papel relevante na aqüicultura, uma vez que 70% dos custos de produção se devem aos gastos com rações. Os níveis nutricionais podem afetar diretamente o desenvolvimento e a função dos órgãos reprodutivos, além de acarretar alterações no funcionamento do sistema endócrino envolvido com a reprodução (MAGGIONI et al., 2008).

As exigências nutricionais durante a fase reprodutiva diferem das outras etapas do desenvolvimento, como larvas, juvenis e engorda.

Segundo Nascimento (2010), para o crescimento e desenvolvimento embrionário normal de peixes, todos os componentes nutricionais necessários devem estar presentes no interior do ovo. Apesar do fato de que os ovos absorvem alguns nutrientes diretamente da água para formação do vitelo, uma maior fonte de nutrientes é necessária para um bom desenvolvimento embrionário do peixe (EL-SAYED, 2006). O fornecimento e utilização dos nutrientes começam com a dieta materna, e ainda depende da eficácia de deposição dos mesmos no ovo.

O estado nutricional da fêmea pode influenciar o desenvolvimento gonadal e limitar a quantidade e a qualidade dos ovos.

As proteínas e lipídios são os principais componentes da dieta, estando presentes no ovo e sendo utilizados como fontes de nutrientes durante a embriogênese. Quando presentes em quantidades adequadas, resultam em uma maior sobrevivência de embriões e larvas.

As proteínas estão presentes nos ovos de peixes como lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade dos ovos e, conseqüentemente, a produção de larvas e alevinos em grande escala (COLDEBELLA et al., 2011). A proteína também influencia na fecundidade, na fertilização, na taxa de eclosão e no tamanho do ovo (GUNASEKERA; SHIM; LAM, 1996b; KSORSVIK; MANGOR-JENSEN; HOLMEFJORD, 1990).

Estudos têm enfatizado a importância da nutrição de reprodutores para melhorar o desenvolvimento produtivo das espécies cultivadas (COWARD; BROMAGE, 2000). Os primeiros estudos sobre influência da nutrição na reprodução iniciaram no Japão, utilizando a espécie *Pagrus auratus* (WATANABE et al., 1984), os quais demonstraram que a preparação de dietas artificiais adequadas, durante o período de pré-desova, tem grande impacto na qualidade dos ovos e larvas.

Os reprodutores de peixes têm demonstrado necessidade de suplementação de nutriente de alta qualidade, principalmente no início do desenvolvimento gonadal e no período da vitelogênese.

Quando os peixes são mantidos em sistema intensivo, a única fonte de nutrientes é a ração. Esta deve preencher as necessidades nutricionais, satisfazendo as exigências de nutrientes necessários para a produção de gametas e as atividades de acasalamento ou desova.

Como critérios para avaliar os efeitos da nutrição na reprodução, são usados: índice gonadosomático (IGS), que durante o processo de maturação gonadal aumenta gradativamente seus valores e seu pico coincide com o estágio de maturação mais avançada das fêmeas e seus menores valores são observados no repouso; índice hepatossomático (IHS), é uma forma de quantificar o estoque de energia na fase de reprodução e o estágio de desenvolvimento gonadal (NAVARRO et al., 2009). Alguns sinais de retardamento no desenvolvimento gonadal, baixa eclodibilidade, diminuição na fertilização e baixa motilidade espermática são fatos que evidenciam a importância da nutrição no desempenho reprodutivo. Deste modo, durante as últimas duas décadas, mais atenção tem sido oferecida aos diferentes nutrientes nas dietas dos reprodutores.

2.1.2 Proteína na Nutrição de Reprodutores

A proteína é o nutriente que mais onera o custo de produção em uma ração comercial e seu requerimento é fundamental para o bom desempenho produtivo e reprodutivo dos peixes.

A importância da proteína na reprodução dos peixes cultivados é, sem dúvida, uma das áreas com menor número de pesquisas. Isto se deve, em parte, à dificuldade de se conseguir instalações adequadas para a manutenção dos reprodutores para condução dos experimentos (ALVARES-LAJONCHERE,

2006) e conseqüentemente o alto custo para elaboração de dietas para conduzir ensaios prolongados.

Sabe-se que os requerimentos nutricionais das matrizes não são os mesmos daqueles determinados para as fases iniciais do desenvolvimento. Entretanto, muitos dos problemas e deficiências encontrados durante as fases iniciais do desenvolvimento dos peixes estão diretamente relacionados aos níveis e tempo de fornecimento dos nutrientes para os reprodutores (IZQUIERDO; FERNANDEZ-PALACIOS; TACON, 2001).

Os nutrientes da dieta influenciam o desempenho reprodutivo de várias espécies de peixes, como tilápia (GUNASEKERA; SHIM; LAM, 1996a), truta arco-íris (PEREIRA et al., 1998) e bagres do gênero *Clarias* (ADEWUMI, 2006). Dentre os principais componentes da dieta, a proteína é o nutriente de maior importância por ser constituinte dos organismos animais em todas as fases de vida, além de estar relacionada à formação de enzimas e hormônios (PEZZATO, 1995).

As proteínas desempenham várias funções dinâmicas e estruturais, essenciais ao organismo. As funções dinâmicas incluem transporte (hemoglobina e transferrina), contração (miosina e actina), controle metabólico (hormônios) e catálise e transformações químicas (enzimas), além de atuarem como protetor do organismo contra infecções virais e bacterianas (imunoglobulinas). Além destes, o desenvolvimento da matriz óssea e do tecido conjuntivo (colágeno e elastina) são funções estruturais da proteína.

Como os demais animais, os peixes também consomem alimentos proteicos com o objetivo de absorverem e suprirem suas exigências em aminoácidos que compõem a estrutura da proteína. Entretanto, os peixes fundamentalmente apresentam maior exigência em proteína que os demais vertebrados (COWEY; LUQUET, 1983) em função da sua menor eficiência de utilização quando comparados aos demais animais domésticos (BOWEN, 1987).

Nas dietas dos peixes a proteína é o item que mais influencia o custo de produção. É provavelmente o mais importante dos nutrientes de uma ração, por afetar diretamente o desenvolvimento dos peixes e ser o componente mais oneroso (AI et al., 2004; CHO et al., 2005; LOVELL, 1989; MILLER; DAVIS; PHELPS, 2005).

Exigências de proteínas ou aminoácidos para crescimento de diferentes espécies têm sido reportadas, embora ainda pouco se saiba sobre exigências deste nutriente para reprodutores de peixes (ROBIN; KAUSHIK, 1995).

As proteínas são os componentes mais abundantes nos tecidos de formação e conformação dos animais, inclusive na piscicultura, totalizando de 65 a 75% do peso corporal seco dos peixes.

Os peixes consomem proteína para obter os aminoácidos, a proteína ingerida é hidrolisada enzimaticamente, liberando os aminoácidos, que são absorvidos pelo trato intestinal e distribuídos através da corrente sanguínea para os órgãos e tecidos, onde são utilizados continuamente na síntese e degradação de proteínas durante o processo de crescimento, reprodução, ou então como fonte de energia (MILLWARD, 1989; WILSON, 1989).

Peixes mantidos em ambiente cuja temperatura está dentro da zona de conforto térmico da espécie apresentam maior exigência proteica na dieta, pois estão em taxa ótima metabólicas Meurer et al. (2002a, 2002b) encontraram valor de 30% para exigência de proteína para juvenis de tilápia do Nilo mantidos em uma temperatura ambiente de 22 °C. O acesso ao alimento natural e frequência de alimentação também influenciam a exigência de proteína na dieta. De acordo com Braga (2003), a concentração de energia da dieta pode limitar o consumo e conseqüentemente afetar a quantidade de proteína consumida por dia.

As fontes proteicas utilizadas nas formulações de dietas devem ser também avaliadas separadamente, através de ensaios de digestibilidade. Segundo Cho (1992), a concentração ótima de proteína na dieta do peixe está marcada por

um delicado balanço entre proteína e energia, ao qual se tem que dispensar atenção especial à qualidade proteica, ao padrão adequado de aminoácidos essenciais disponíveis e as fontes de energia não proteica (lipídios e carboidratos).

Segundo Borghesi (2008), a formulação de dietas com níveis inadequados de proteína e aminoácidos pode causar redução no crescimento, diminuição da eficiência alimentar, imunodepressão e perda de peso em função da mobilização da proteína de alguns tecidos para manutenção das funções vitais. Por outro lado, se a quantidade de proteína suplementada na dieta for superior às exigências do peixe, apenas parte desta será utilizada para formação de tecido muscular e crescimento, o restante será catabolizado, convertido em energia e o excesso de nitrogênio será liberado no ambiente podendo gerar problemas ambientais (BORGHESI, 2008).

A exigência em proteína dietética pode ser definida como a quantidade mínima necessária para atender as exigências nutricionais em aminoácidos que proporcionarão o máximo crescimento dos peixes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2011). As dietas devem assegurar quantidades adequadas de aminoácidos, mantendo uma relação constante entre suas concentrações para atender uma espécie em particular.

A exigência de proteína para alevinos e juvenis de tilápia tem sido determinada por diversos autores (EL-SAIDY; GABER, 2005; FURUYA et al., 2000; PEZZATO et al., 1986; SILVA; GUNASEKARA; ATAPATU, 1989), entretanto a exigência de proteína para reprodutores é uma das áreas menos estudadas e às vezes controversa, devido à complexidade para a realização dos experimentos e o entendimento dos mecanismos fisiológicos envolvidos.

A proteína é também um fator que contribui para a maturidade em peixes. Gunasekera, Shim e Lam (1995) observaram que os peixes alimentados com níveis extremamente baixos de proteína não atingem a puberdade. Os níveis

de proteína na alimentação têm sido atribuídos como um auxílio no início da vitelôgênese. Os peixes alimentados com baixo nível de proteína iniciam a vitelogênese em um ritmo muito mais lento e mais tarde na vida, quando comparados com os peixes alimentados com uma dieta rica em proteínas (WASHUBERN, 1990).

Dietas com elevado teor proteico aumentam a fecundidade em algumas espécies de peixes. Smith et al. (1979), trabalhando com uma dieta com alto valor proteico para rainbow trout observou que estes produziram ovos significativamente maiores que os peixes que receberam um dieta com baixo valor proteico.

Segundo Dahlgren (1980), os níveis elevados de proteína na alimentação animal aumentam o peso e o diâmetro do ovário, isto sugere que fêmeas que ingeriram níveis mais altos de proteína são capazes de mobilizar a proteína para fins reprodutivos com mais eficiência.

Na embriogênese, a proteína é fonte de aminoácidos essenciais que estão envolvidos nas principais atividades de síntese nos estágios iniciais de desenvolvimento. As proteínas estão presentes nos ovos de peixes como lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade do ovo e a produção de peixes em larga escala (PARRA et al., 2010).

A influência da proteína na maturação gonadal, desova e fecundação foram observadas por Gunasekera e Lam (1997) que, trabalhando, com efeito, de diferentes níveis de proteína na puberdade e crescimento de ovócitos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), constataram que animais que se alimentaram com níveis mais altos de proteína (32 e 40%) alcançaram puberdade mais cedo e ocorrendo, também, um amadurecimento de ovócitos mais rapidamente do que em animais alimentados com níveis mais baixos.

Também trabalhando com tilápia (*O. niloticus*), Al-Hafedh (1999) e Al-Hafedh, Siddiqui e Al-Saiady (1999) observaram que o nível da proteína da

dieta influenciou na maturação gonadal em machos, onde o melhor resultado foi com 40 a 45% de proteína. Fernandez-Palacios et al. (1997) compararam proteína de lula e proteína de pescado e verificaram que a proteína de lula proporcionou maiores quantidades de ovos viáveis do que a proteína de pescado, em gilthead seabream (*Sparus aurata*). Ikenoue e Kafuku (1992) verificaram que utilizando 70% de proteína animal e 30% de origem vegetal e enriquecendo a ração com vitaminas e minerais, obtém-se uma aceleração da maturidade gonadal em carpas (*Cyprinus carpio*).

Estudos têm indicado que reprodutores de tilápia requerem cerca de 30 a 40% de proteína dietética para melhor desempenho reprodutivo e eclodibilidade de ovos (GUNASEKERA; SHIM; LAM, 1996a; SANTIAGO et al., 1985; WEE; TUAN, 1988). O desenvolvimento gonadal e especialmente a qualidade da desova dependem da qualidade das dietas oferecidas para os reprodutores (IZQUIERDO; FERNANDEZ-PALACIOS; TACON, 2001).

Entretanto, fatores intrínsecos e ambientais podem exercer influência na qualidade ovocitária dos peixes na maioria das espécies de interesse comercial, os processos de desenvolvimento gonadal são relacionados ao fotoperíodo e temperatura.

A qualidade da desova dos peixes é uma variável importante na expansão da aquicultura, seja de espécies marinhas ou de água doce. O desenvolvimento gonadal e a fecundidade são afetados por nutrientes essenciais da dieta, principalmente em peixes de desovas contínuas com curtos períodos vitelogênicos.

Em peixes, uma desova de boa qualidade é aquela que resulta em altas taxas de fertilização, eclosão e sobrevivência após a absorção do saco vitelínico (BROMAGE et al., 1992).

Segundo Bobbe e Labbé (2010), uma dieta inadequada pode afetar não apenas o número de ovócitos liberados (fecundidade), bem como, o processo de gametogênese, e conseqüentemente, a qualidade dos gametas.

Com isso, pode-se inferir que o desenvolvimento gonadal e a fecundidade são afetados por nutrientes essenciais da dieta, especialmente em peixes de desovas contínuas com curtos períodos vitelogênicos e que este processo interfere na qualidade da desova dos peixes, que é uma variável importante na expansão da aquicultura.

2.1.3 Parâmetros hematológicos em peixes

O conhecimento das respostas hematológicas para diferentes dietas pode ser usado para formular novas estratégias que sejam viáveis na alimentação e para avaliar se as condições estabelecidas estão produzindo espécies saudáveis no cultivo (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009).

Os valores hematológicos e a bioquímica sanguínea são ferramentas importantes na determinação da saúde e equilíbrio do metabolismo dos peixes, tanto em ambiente natural como em sistema intensivo de produção.

Diferentes componentes do sangue são bons indicadores do estado de saúde de peixes em condições naturais, bem como mudanças em seu habitat (PEDRO et al., 2004). Pesquisas com hematologia de peixes demonstram que as variações nas condições ambientais como temperatura, pH, oxigênio, entre outros, podem causar alterações fisiológicas nos níveis de alguns parâmetros sanguíneos (ALVARADO, 1997; VALENZUELA; ALVEAL; TARIFEÑO, 2002). Entretanto, tem sido relatado que estas variações também podem ser influenciadas por inúmeros fatores como idade, espécie, fotoperíodo, estado nutricional e a metodologia utilizada para determinação (PEDRO et al., 2004). Portanto, a literatura é escassa e controversa em relação aos valores dos

diferentes parâmetros entre as espécies de peixes. Até mesmo quando se considera uma mesma espécie em fases diferentes de vida, de estágio e maturação gonadal, de diferentes habitats e condições ambientais, as divergências são evidentes (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

2.1.4 Vitelogênese e Vitelogenina

Na maioria dos peixes o ovo apresenta vitelo, que é um material nutriente composto por lipídios e proteínas, que será utilizado pelo embrião desde a fecundação até o momento em que for capaz de capturar alimento exógeno (BALDISSEROTTO, 2002). Vitelogênese é o processo de incorporação de vitelogenina pelo ovócito e a subsequente formação das proteínas do vitelo (LE MENN; CERDÀ; BABIN, 2007). Entretanto, este processo também engloba a assimilação de outros nutrientes como lipídios e vitaminas (LUBZENS et al., 2010). Ao término deste processo o ovócito será apto à fertilização e reunirá itens fundamentais para o desenvolvimento do embrião como mRNA materno, proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e hormônios (LE MENN; CERDÀ; BABIN, 2007). A vitelogenina é o principal constituinte do vitelo encontrada no plasma de fêmeas de todos os vertebrados ovíparos durante o período da vitelogênese. Sintetizada pelos hepatócitos no fígado, levada até o sangue e transportada até os ovários onde é incorporada ao ovócito sob controle da gonadotrofina I (MARIN; MATOZZO, 2004) e subsequente processada para formar o vitelo (SILVERSAND; HYLLNER; HAUX, 1993) (Figura 2). Alguns tecidos extra-hepáticos como os ovários e o intestino também produzem vitelogenina, no entanto, é o fígado que contribui com a maior produção da proteína presente no plasma (BABIN; CERDÀ; LUBZENS, 2007).

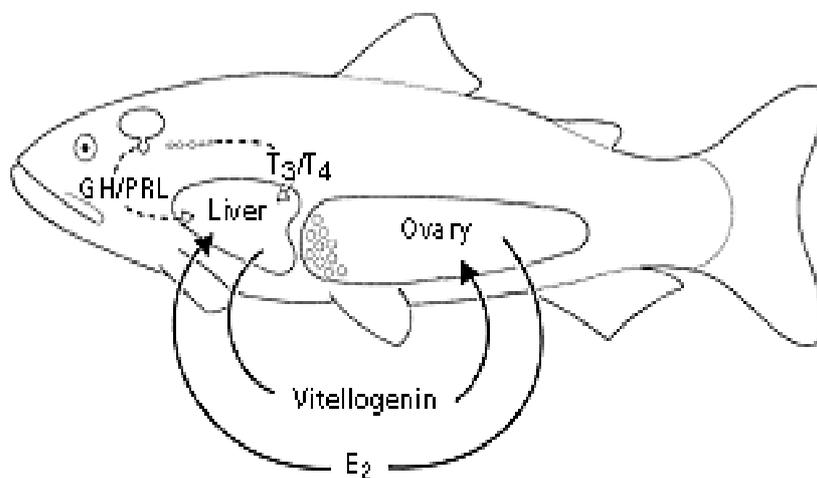


Figura 1 Síntese da vitelogenina em peixes

Fonte: Sumpter e Jobling (1995)

Presente nas células granulosas do folículo ovariano, o 17β -estradiol (E2) é considerado o principal hormônio para estimulação da síntese da vitelogenina pelos hepatócitos. Existem evidências que nos peixes o hormônio de crescimento (GH) e a prolactina (PRL), produzidas pela hipófise e a Triiodotironina (T3) e a Tiroxina (T4), produzidas pela tireóide, aumentem os efeitos do estradiol. A vitelogenina é uma glico-fosfo-lipoproteína de alto peso molecular, pertencente à família das grandes proteínas transferidoras de lipídios (LLTP), sintetizada em hepatócitos sob controle multi-hormonal. A transcrição de seu RNAm é ativada por estrógenos, principalmente o 17β -estradiol (E2), após ligação com o receptor nuclear (RE).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A nutrição e alimentação de peixes têm alcançado hoje no mundo grandes avanços no que se diz a respeito ao desempenho produtivo dos organismos aquáticos como um todo. Apesar disso, ainda são poucas as informações disponíveis sobre as exigências nutricionais dos peixes durante a fase reprodutiva. Sabe-se que os requerimentos nutricionais dos reprodutores não são os mesmos daqueles determinados para as fases iniciais do desenvolvimento, pesquisas vêm demonstrando a necessidade da suplementação com nutrientes de alto valor agregado em dietas para reprodutores, principalmente no início do desenvolvimento gonadal e no período da vitelogênese.

Todas as espécies de peixes, no período reprodutivo, sofrem influência de fatores externos, necessitando assim, de uma adequada fonte de alimentação para sua sobrevivência e para desenvolvimento reprodutivo adequado.

O conhecimento da influência da dieta sobre o desempenho reprodutivo torna-se uma ferramenta indispensável para a elaboração de dietas adequadas, especialmente em peixes de desovas contínuas com curtos períodos vitelogênicos onde este processo interfere na qualidade da desova dos peixes e isto refletirá na qualidade e produção de larvas e alevinos que são hoje fatores limitantes para a expansão da aquicultura.

REFERÊNCIAS

- ADEWUMI, A. A. The growth and gonadal maturation of the african catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) broodstock fed differently heated soybean-based diets. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 267-274, Aug. 2006.
- AI, Q. et al. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 230, n. 1, p. 507-516, Feb. 2004.
- AL-HAFEDH, Y. S. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, n. 5, p. 385-393, May 1999.
- AL-HAFEDH, Y. S.; SIDDIQUI, A. Q.; AL-SAIADY, M. Y. Effects of dietary protein levels on gonads maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile Tilapia. **Aquaculture International**, Surrey, v. 7, n. 5, p. 319-332, Sept. 1999.
- ALVARADO, H. Efecto de tres concentraciones de calcio en el agua sobre algunos parâmetros hematológicos de la trucha arco iris. **Veterinária Tropical**, Cali, v. 22, n. 1, p. 5-12, 1997.
- ALVAREZ-LAJONCHERE, L. Nutrición de reproductores de peces marinos. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 8., 2006, Monterrey. **Anales...** Monterrey: Universidad Autônoma de Nuevo León, 2006. p. 1-19.
- BABIN, P. J.; CERDÀ, J.; LUBZENS, E. (Ed.). **The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications**. Dordrecht: Springer, 2007. 76 p.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002. 211 p.
- BICUDO, I. J.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 486-495, Feb. 2009.
- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 1, p. 535-548, Feb. 2010.

BORGHESI, R. **Exigências em proteína e energia e valor biológico de alimentos para o dourado (*Salminus brasiliensis*)**. 2008. 97 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2008.

BOSMA, R. H.; VERDEGEM, M. C. J. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 139, n. 1, p. 58-68, Jan. 2011.

BOWEN, H. Dietary protein requirements of fishes-A reassessment. **Canadian Journal of Fisheries e Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 44, n. 11, p. 1995-2001, Nov. 1987.

BRAGA, L. G. T. Nutrição e alimentação de peixes. In: _____. **Nutrição animal: tópicos avançados**. Itapetininga: UESB, 2003. p. 6-14.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil: 2008 e 2009**. Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em: 2 fev. 2012.

BROMAGE, N. et al. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 100, n. 1, p. 141-166, Apr. 1992.

CHO, C. Y. Feeding for rainbow trout and other salmonids: with reference to current estimates of energy and protein requirements. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 100, n. 1, p. 107-123, Apr. 1992.

CHO, S. H. et al. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 235-240, Aug. 2005.

COLDEBELLA, I. J. et al. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 312, n. 1, p. 137-144, Jan. 2011.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, v. 10, n. 1, p. 1-25, Mar. 2000.

COWEY, C. B.; LUQUET, P. Physiological basis of protein requirements of fishes: critical analysis of allowances. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PROTEIN METABOLISM AND NUTRITION, 4., 1983, Les Colloques. **Proceedings...** Les Colloques: INRA, 1983. p. 365-384.

DAHLGREN, B. T. The effects on three different dietary protein levels on the fecundity in the guppy (*Poecilia reticulata*). **Journal of Fish Biology**, London, v. 16, n. 1, p. 83-97, Mar. 1980.

DU, Z. Y. et al. The influence of feeding rate on growth feed efficiency and body composition of juve Nile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Interncional**, Surrey, v. 14, p. 247-257, 2006.

DUPONCHELLE, F.; LEGENDRE, M. Influence of space structure on reproductive traits of *Oreochromis niloticus* females. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, 4., 1997, Fitzsimmons. **Proceedings...** Fitzsimmons: STA, 1997. p. 305-314.

EL-SAYDI, D. M. S. D.; GABER, M. M. A. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), cultured in concrete tanks. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 163-171, Feb. 2005.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilapia culture**. Massachusetts: CABI, 2006. 277 p.

FERNANDEZ-PALACIOS, H. et al. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 148, n. 2/3, p. 233-246, Jan. 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Rome, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 10 fev. 2012.

FURUYA, W. M. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 6, p. 1912-1917, nov./dez. 2000.

GRAAF, G. J.; GALEMONI, F.; HUISMAN, E. A. Reproductive biology of pond-reared Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 25-33, Apr. 1999.

GUNASEKERA, R. M.; LAM, T. J. Influence of protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 149, n. 1 p. 57-69, 1997.

GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 134, n. 1/2, p. 169-183, 1995.

_____. Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 1/2, p. 121-134, Oct. 1996a.

_____. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 3/4, p. 245-259, Nov. 1996b.

IKENOUE, H.; KAFUKU, T. Flatfish (*Paralichthys olivaceus*). In: _____. **Modern methods of aquaculture in Japan**. 2nd ed. Kodansha: Elsevier, 1992. p. 144-149.

IZQUIERDO, M. S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1, p. 25-42, Feb. 2001.

KSORSVIK, E.; MANGOR-JENSEN, A.; HOLMEFJORD, I. Egg quality in fishes. **Advances in Marine Biology**, Berlin, v. 26, n. 1, p. 71-113, Apr. 1990.

LE MENN, J.; CERDÀ, P. J.; BABIN, P. J. Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles. In: BABIN, P. J. (Ed.). **The fish oocyte: from basic studies to biotechnological application**. Wageningen: Springer, 2007. p. 1-37.

LOVELL, R. T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: V. N. Reinhold, 1989. 260 p.

LUBZENS, E. et al. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 3, p. 367-389, Feb. 2010.

MAGGIONI, D. et al. Efeito da nutrição sobre a reprodução de ruminantes: uma revisão. **PUBVET**, Porto Alegre, n. 22, p. 1-16, mar. 2008.

MAIR, G. C. et al. Small-scale fry production systems for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture and Fisheries Management**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 229-235, Mar. 1993.

MARIN, M. G.; MATOZZO, V. Vitellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 48, n. 9/10, p. 835-839, May 2004.

MEURER, F. et al. Exigência de proteína digestível para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002a. 1 CD-ROM.

_____. Lipídios na alimentação de alevinos revertidos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Brazilian Journal of Animal Science**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 566-573, 2002b.

MILLER, C. L.; DAVIS, D. A.; PHELPS, R. P. The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult reed sapper, *Lutjanus campechanus* (Poey 1860). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 52-60, Mar. 2005.

MILLWARD, D. J. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 1-29, 1989.

NASCIMENTO, T. S. R. **Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápia-do-nilo**. 2010. 59 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of fish**. Washington: National Academy, 2011. 115 p.

NAVARRO, R. D. et al. A importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 33, n. 1, p. 20-25, 2009.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; PEDINI, M. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq, 2000. p. 353-382.

PARRA, J. E. G. et al. Desempenho reprodutivo de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes fontes protéicas. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 59, n. 226, p. 255-265, 2010.

PEDRO, N. et al. **Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales**. Lima: CIVA, 2004. 190 p.
Disponível em:
<http://www.revistaaquatic.com/civa2004/coms/listado_todo.asp>. Acesso em: 10 mar. 2012.

PEREIRA, J. O. B. et al. Effect of protein source on the reproductive performance of female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 751-760, Oct. 1998.

PEZZATO, L. E. **Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para a indústria da nutrição de peixes e crustáceos**. Campinas: CBNA, 1995. 166 p.

PEZZATO, L. E. et al. Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetida a reversão sexual. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5., 1986, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: UFMT, 1986. p. 70-71.

POPMA, T. J.; PHELPS, R. P. Status report to commercial tilápia producers on monosex fingerling productions techniques. In: _____. **Anais da Associação Brasileira de Aqüicultura**. Recife: ABA, 1998. p. 127-145.

RIGHETTI, J. S. et al. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 3, p. 469-476, mar. 2011.

ROBIN, J.; KAUSHIK, S. J. Nutrition and Broodstock performance. In: ORKSHOP PROCEEDINGS. FISH NUTRITION, 5., 1994, Singapore. **Proceedings...** Bangkok: IFREMER; INRA, 1995. p. 415-424.

SANTIAGO, C. B. et al. The effect of artificial diets on fry production and growth of *Oreochromis niloticus* breeders. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 47, n. 2/3, p. 193-203, July 1985.

SILVA, S. S.; GUNASEKARA, R. M.; ATAPATU, D. The dietary protein requirements of young tilapia and an evaluation of the least cost of dietary protein levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 80, n. 3/4, p. 271-284, Sept. 1989.

SILVERSAND, C.; HYLLNER, S. J.; HAUX, C. Isolation, immunochemical detection, and observations of the instability of vitellogenin from four teleosts. **The Journal of Experimental Zoology**, New York, v. 267, n. 6, p. 587-597, Dec. 1993.

SMITH, C. E. et al. Effect of diet composition on performance of rainbow trout broodstock during a three year period. **Progressive Fish-Culturist**, Bethesda, v. 41, p. 167-177, 1979.

SUMPTER, J. P.; JOBLING, S. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 103, n. 7, p. 173-178, 1995.

TACON, P. et al. Relationships between the expression of maternal behavior and ovarian development in the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 3/4, p. 261-275, Nov. 1996.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004. 144 p.

VALENZUELA, A.; ALVEAL, K.; TARIFEÑO, Y. E. Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipóxico agudo: série roja. **Gayana**, Concepcion, v. 66, n. 2, p. 255-261, 2002.

WASHBURN, B. S. et al. Dietary effects on tissue composition, oogenesis, and the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 90, n. 2, p. 179-195, Oct. 1990.

WATANABE, T. et al. Effect of nutritional quality of broodstock diets on Reproduction of sea bream. **Nippon Suisan Gakkaishi**, Tokyo, v. 50, p. 495-501, 1984.

WEE, K.; TUAN, N. A. Effects of dietary protein level on growth and reproduction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, 2., 1988, Manila. **Proceedings...** Manila: ICLARM, 1988. p. 401-410.

WILSON, R. P. Amino acids and protein. In: HALVER, J. H. (Ed.). **Fish nutrition**. San Diego: Academic, 1989. p. 112-153.

ZANARDI, M. F. **Fontes de lipídios na reprodução e larvicultura de tilápia do nilo**. 2011. 100 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 Níveis de proteína bruta sobre os parâmetros de desempenho reprodutivo de fêmeas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

RESUMO

O presente estudo objetivou-se avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas matrizes de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB). Foram utilizados 240 reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com idade média de 30 meses, sendo 180 fêmeas e 60 machos. Os reprodutores foram alojados separadamente em tanques de alvenaria com fluxo de água contínuo. As fêmeas foram estocadas em trinta tanques com dimensões de 8 m³, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiam de cinco rações com diferentes níveis de PB (32, 34, 36, 38, 40%) e com uma relação de energia digestível por grama de proteína de 9,5kg de ração. Os níveis de PB influenciaram positivamente ($p<0.05$) nos parâmetros reprodutivos (fecundidade relativa e fecundidade absoluta das fêmeas, diâmetro de ovos, capacidade de sobrevivência ao jejum das larvas); nos índices somáticos (gonadossomático (IGS); hepatossomático (IHS); viscerossomático (IVS)); taxas de proteína total do plasma; albumina e triglicerídeos. Não houve diferenças significativas ($p>0.05$) observadas em relação ao peso da desova e peso das fêmeas. Os parâmetros reprodutivos estudados na presente pesquisa indicam que as dietas formuladas com 38% de PB com uma relação de ED/g de PB de 9,5 foi à melhor dieta durante o período reprodutivo para fêmeas de tilápias.

Palavra-chave: Tilápia. Reprodução. Diâmetro do ovo. Capacidade de sobrevivência das larvas. Índices somáticos. Índices reprodutivos.

ABSTRACT

The present work aimed to study the reproductive performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) female broodstock, fed diets containing different crude protein (CP) levels. 240 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were used, with average age of 30 months, 180 being females and 60 males. The broodstock were lodged separately in masonry tanks with continuous water flow. The females were stocked in thirty tanks with dimensions of 8 m³, in completely randomized design, consisting of five treatments and six replications. The treatments consisted of five diets with different levels of CP (32, 34, 36, 38 and 40%) and with digestible energy per gram of protein of 9.5/kg of feed. The crude protein (CP) levels positively influenced ($p < 0.05$) the reproductive parameters (female relative and absolute fecundity, egg diameter, fasting larvae survival capacity); the somatic indexes (gonadosomatic (GSI); hepatosomatic (HIS); viscera somatic (VSI)); total plasmatic protein rate; albumin and triglycerides. There were no significant differences ($p > 0.05$) observed in regard to spawning weight and female weight. The reproductive parameters studied in the present research indicate that the diets formulated with 38% CP with digestible energy per gram of CP of 9.5 were the best diets for tilapia females during the reproductive period.

Key-words: Tilapia. Reproduction. Egg diameter. Larvae Survival capacity. Somatic indexes. Reproductive indexes.

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é o setor da produção animal de maior crescimento no mundo nos últimos cinco anos e desde então a produção de pescado no Brasil vem apresentando altas taxas de crescimento anuais. Esse crescimento deve-se à percepção de que o ambiente aquático é um grande sistema de produção e sua utilização tem por estímulo o aumento da população e a crescente demanda por alimento com alto valor agregado no mercado consumidor. Para atender a esse crescimento e a intensificação cada vez maior dos sistemas de cultivo nos últimos anos, muitas pesquisas são necessárias para tornar a produção cada vez mais eficiente e sustentável.

As tilápias constituem o segundo grupo de peixes de maior importância na aquicultura mundial e é a espécie mais produzida no Brasil. Elas se destacam por apresentar rápido crescimento, rusticidade, carne de excelente qualidade com boa aceitação no mercado e maturidade sexual precoce (BOTARO et al., 2007). A espécie também possui características que permitem sua utilização em ensaios científicos devido às facilidades de manejo e de reprodução ao longo do ano. As tilápias podem ser cultivadas em diversos ambientes com água doce, salobra ou marinha, com diferentes pacotes tecnológicos, entretanto há a necessidade de mais informações sobre as exigências nutricionais para a espécie (FURUYA, 2010), principalmente para reprodutores.

A nutrição tem um papel relevante na aquicultura, uma vez que a maior parte dos custos de produção da piscicultura se deve aos gastos com ração sendo a proteína o nutriente que mais onera os custos de produção em uma ração comercial. O conhecimento da exigência nutricional dos peixes é um dos pontos mais importantes para a formulação de dietas equilibradas e de baixo custo além de diminuir a excreção de nitrogênio no corpo de água.

O estado nutricional da fêmea pode influenciar o desenvolvimento gonadal e limitar a quantidade e a qualidade dos ovos (JOHNSTON et al., 2007; SILVA; NGUYEN; INGRA, 2008). As proteínas e lipídios são os principais componentes da dieta, estando presente no ovo e são utilizados como fontes de nutrientes durante a embriogênese e quando presentes em quantidades adequadas, resultam em uma maior sobrevivência dos embriões e larvas. As proteínas estão presentes nos ovos de peixes, como lipoproteínas, hormônios e enzimas determinando a qualidade dos ovos e, conseqüentemente, a produção de larvas e alevinos em grande escala (COLDEBELLA et al., 2011).

Estudos têm indicado que reprodutores de tilápia requerem cerca de 30 a 40% de proteína dietética para melhor desempenho reprodutivo e eclodibilidade de ovos. Com isso conhecimento da exigência nutricional dos peixes é um dos pontos mais importantes para a formulação de dietas equilibradas e de baixo custo além de diminuir a excreção de nitrogênio no corpo de água. A nutrição de reprodutores é uma das áreas menos estudadas e às vezes controversa, devido à complexidade para a realização dos experimentos (BOBE; LABBÉ, 2010).

Entretanto com a importância cada vez maior que vem sendo atribuída à aquicultura, faz-se necessário que os produtores de peixes aprimorem-se nas técnicas necessárias de forma a assegurar o êxito para aumentar a produção de peixes. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de dietas com diferentes níveis de proteína sobre os parâmetros de desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi realizado, no período de 120 dias, na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás/Furnas na cidade de São José da Barra-MG, em uma parceria entre a Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG e Eletrobrás-Furnas.



Figura 1 Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás/Furnas

2.2 Material biológico e instalações

Foram utilizados 240 reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem Chitralada, com peso médio de 764 g, sendo 180 fêmeas e 60 machos. Os reprodutores foram alojados separadamente em tanques de alvenaria, com dimensões de 8 m³, com fluxo de água contínuo com uma densidade de seis peixes por tanque.

2.3 Delineamento experimental

Os tratamentos consistiam de cinco rações com diferentes níveis de proteína bruta (32, 34, 36, 38 e 40%) e com uma relação de ED/g de PB de 9,5. As fêmeas foram distribuídas em trinta tanques em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições. Os machos foram mantidos em 10 tanques de mesma dimensão que das fêmeas em uma densidade de seis peixes por tanque, sendo dois tanques por tratamento, recendo as mesmas rações que as fêmeas.

2.4 Dietas experimentais

Foram elaboradas cinco dietas experimentais (Tabela 1) com diferentes níveis de proteína bruta (PB), formuladas de acordo com a tabela de composição química dos ingredientes, conforme Furuya (2010). Todos os ingredientes foram moídos, até atingirem diâmetro igual ou inferior a 0,04 mm. Os ingredientes foram pesados, homogeneizados e acrescentado água, na proporção de 20% do peso total da ração. As dietas foram peletizadas em peletizadora elétrica e secas em estufa de ventilação (50 °C), durante 24 horas.

Tabela 1 Ingredientes e composição calculada das dietas experimentais fornecidas às fêmeas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (com base na matéria seca).

Ingredientes (%)	Níveis de Proteína na dieta (%)				
	Relação de ED/g de PB de 9,5				
	32	34	36	38	40
Farelo de soja	48,00	53,80	57,50	64,00	68,65
Farinha de peixe (64%PB)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Milho	20,90	16,00	15,90	13,04	5,50
Farelo de Trigo	5,00	5,00	5,00	1,00	0,60
Alginato	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Óleo de Soja	0,20	2,00	2,00	4,00	7,80
Fosfato bicálcico	4,95	3,99	1,50	0,34	0,45
Vitamina C	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Sal	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Premix Vitamínico/Mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	3,65	1,61	0,50	0,10	0,10
BHT ²	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição calculada					
Energiadigestível (Kcal/kg)	3.040	3.230	3.420	3.610	3.800
Proteína bruta (%)	32,04	34,24	36,25	38,19	40,05
Extrato etéreo	3,87	5,56	5,73	7,64	10,22
Fibra bruta (%)	3,74	3,99	4,39	4,30	4,42
Lisina	2,34	2,55	2,54	2,53	2,73
Metionina	0,53	0,55	0,58	0,55	0,58
Treonina	1,44	1,52	1,50	1,46	1,38

¹ Premix mineral e vitamínico: Composição/ kg do produto: vit. A = 900.000 UI; vit. D3 = 50.000 UI; vit. E=6.000 mg; vit. K3 = 1200 mg; vit. B1 = 2400 mg; vit. B2 = 2400 mg; vit. B6 = 2000 mg; vit.B12 = 4800 mg; ácido fólico = 1200 mg; pantotenato de cálcio = 12.000 mg; vit. C = 24.000 mg; biotina = 6,0 mg; colina = 65.000 mg; ácido nicotínico = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mn = 4000 mg; Zn = 6000 mg; I = 20 mg; Co = 2,0 mg e Se = 25 mg.

²Butil-Hidroxi-tolueno (antioxidante)

2.5 Parâmetros limnológicos

As variáveis limnológicas da água dos tanques foram mensuradas diariamente pela manhã (condutividade, pH, oxigênio dissolvido e temperatura),

com auxílio de sonda multiparâmetros digital duplo canal HQ40D, seguindo o protocolo da Estação de Piscicultura da Eletrobrás/Furnas.

2.6 Manejo experimental

O período de adaptação à ração e ao ambiente foi de 10 dias, neste período os animais receberam uma ração de 32% PB. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (às 9 h e às 15 h), com taxa diária de arramento de 2% da biomassa. Durante o período de condicionamento, machos e fêmeas foram mantidos isolados, em descanso reprodutivo. No período experimental os reprodutores de ambos os sexos foram alimentados com as rações experimentais.

2.7 Acasalamento, coleta e incubação dos ovos

O acasalamento dos reprodutores foi realizado segundo metodologia descrita por Macintosh e Little (1995), no qual dois machos por tratamento foram transferidos para os tanques das fêmeas que estavam recebendo a mesma dieta, durante um período de cinco dias em uma proporção de 3 fêmeas para 1 macho. Foram considerados como unidade experimental os tanques nos quais estavam alojadas as fêmeas de acordo com metodologia descrita por El-Sayed, Mansour e Ezzat (2005). Ao término do acasalamento realizou-se as coletas dos ovos, retirados da boca das fêmeas através de contra-fluxo da orofaringe, com auxílio de uma piceta e um béquer de 500 mL. Para avaliação do índice reprodutivo das fêmeas no momento da coleta, os ovos retirados foram pesados em balança de precisão digital com três casas após a vírgula, e três gramas de amostra coletadas foram fixados em solução de formalina (4%) e posteriormente contados, adaptado de El-Sayed, Mansour e Ezzat (2005), para estimar a

fecundidade relativa (número ovos por grama de peso da fêmea) e a fecundidade absoluta (o número total de ovos por desova) das fêmeas.

Para a determinação do diâmetro dos ovos, foram colhidas amostras de aproximadamente 100 ovos por tratamento e fixados, e posteriormente foram analisadas em microscópio estereoscópico, dotado de ocular micrométrica, metodologia respectivamente, adaptada de Ballestrazzi et al. (2003).

Os ovos coletados na boca das fêmeas foram submetidos à incubação artificial em incubadoras com capacidade para 3 L de água, confeccionadas em PVC, com fundo cego e redondo, com entrada e saída de água individual. A temperatura da água do sistema de incubação foi mantida entre 26 e 27 °C.

Após a eclosão dos ovos foram coletadas 2000 larvas por tratamento, com três dias de idade, para avaliar o efeito das rações fornecidas aos reprodutores sobre o tempo de sobrevivência das proles ao jejum. As larvas foram distribuídas em 20 aquários com capacidade para 100 L, em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições, permanecendo nesses aquários até a mortalidade total. Duas vezes ao dia (8 h e 16 h) foi verificada a mortalidade das larvas, retiradas e contadas. A avaliação foi realizada por um período de 25 dias e ao final desse período fez-se a determinação da taxa capacidade de sobrevivência das larvas, adaptado de Lavens et al. (1999).

2.8 Coleta de sangue e análises sanguíneas

Ao final do período experimental todas as fêmeas foram anestesiadas com solução de 2-fenoxietanol (0,04%) e as amostras de sangue foram rapidamente coletadas por punção da veia caudal, com auxílio de seringas contendo EDTA (4%). A partir das amostras sanguíneas foram determinados: concentração de hemoglobina (Hb), pelo método da cianometahemoglobina

(COLLIER, 1944), o hematócrito (Hct), pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB et al., 1971).

O teor de proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina (ALB) e triglicerídeos (TRIGL) foram realizados com kits comerciais da marca Labtest pelo método de ELISA no Laboratório de Fisiologia do Departamento de Medicina Veterinárias da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Após as coletas sanguíneas, os peixes foram individualmente pesados (g) e medidos em comprimento total e padrão (cm), com auxílio de balança digital e ictiômetro.

Em seguida as fêmeas foram, submetidas à eutanásia por meio de uma solução de 2-fenoxietanol (0,06%) para dissecação e pesagem do fígado, gônadas e vísceras com estes dados foram calculados os seguintes índices:

Índice gonadosomático (IGS) = $[(\text{peso das gônadas} * 100) / \text{peso do peixe}]$;

Índice hepatosomático (IHS) = $[(\text{peso do fígado} * 100) / \text{peso do peixe}]$;

Índice viscerossomático (IVS) = $[(\text{peso das vísceras} * 100) / \text{peso do peixe}]$

Após a pesagem das gônadas foram coletadas amostras de ovócitos para avaliação de diâmetro dos mesmos. As amostras foram fixadas conforme metodologia adotada para avaliar os ovos, já descritos anteriormente.

2.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, decompondo as somas de quadrado de tratamento em somas de quadrado de componentes de regressão linear, para a escolha do modelo que mais se ajustasse aos dados. Quando necessário foi também testado o modelo de regressão LRP (Linear

Response Plateau), para definição do melhor nível de proteína utilizando o pacote computacional SAEG-UFV (EUCLIDES, 1983).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Qualidade da água

Os valores médios para temperatura (°C) de 22,47; condutividade de 36,45; pH de 7,43 e de Oxigênio dissolvido (mG L^{-1}) de 7,02, dos tanques durante o período experimental, encontram-se dentro dos limites recomendados para a reprodução de tilápias (BHUJEL, 2000), e são considerados adequados para desenvolvimento embrionário inicial de tilápia (RANA, 1990).

3.2 Parâmetros reprodutivos

No presente estudo não houve efeito ($p > 0,05$) dos níveis de PB da dieta sobre peso da desova como demonstrado na (Tabela 2). Com exceção do peso final das fêmeas e do peso da desova, todas as demais variáveis estudadas foram influenciadas ($p < 0,05$) pelo nível de PB da dieta (Tabela 2).

Tabela 2 Média dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta na dieta

Variáveis	Nível de Proteína (%)				
	32	34	36	38	40
Número de fêmeas	36	36	36	36	36
Peso final fêmeas (g) ^{NS}	840,58	844,16	843,58	841,41	844,58
Peso da desova (g) ^{NS}	34,35	36,46	39,64	39,54	38,36
Fecundidade absoluta * ¹	2860,00	3285,00	3418,00	3757,00 ¹	3753,00
Fecundidade relativa * ¹	3,33	4,05	4,12	4,70 ¹	4,51
Diâmetro dos ovos (mm)* ¹	2,30	2,38	2,57	2,78 ¹	2,70
Diâmetro dos ovócitos (mm) * ¹	2,17	2,24	2,30	2,34 ¹	2,31
Capacidade sobrevivência das larvas (%)** ²	41,75	48,25	59,50	64,50 ¹	58,50
Índice viscerossomático** ²	2,98	3,89	4,34 ¹	4,05	3,22
Índice hepatossomático** ²	1,55	1,80	1,91 ¹	1,76	1,67
Índice gonadossomático* ¹	1,95	2,42	3,13	4,00	4,22 ¹

Nível em que a produção atinge seu ponto máximo;

* 1 LRP;

** 2 efeito quadrático;

^{NS} não significativo

As figuras 2 e 3 mostram efeito significativo dos níveis de proteína sobre a fecundidade absoluta e fecundidade relativa das fêmeas, à medida que aumentava os níveis de proteína da dieta. Foi observado que a proteína da dieta influenciou diretamente na fecundidade das fêmeas. Sendo que a menor fecundidade absoluta e relativa das fêmeas foi de 2860 e 3,30, respectivamente, foram observados nas fêmeas alimentadas com 32% de proteína na ração. A maior fecundidade absoluta e relativa foi de 3757, e 4,70, respectivamente, observadas para as fêmeas que receberam dietas com 38% de PB. Entretanto neste estudo pelas análises realizadas pelo LRP, a fecundidade absoluta apresentou um platô (Figura 2) no nível de 38,36% e a fecundidade relativa apresentou um platô (Figura 3) no nível de 37,14% de PB na dieta.

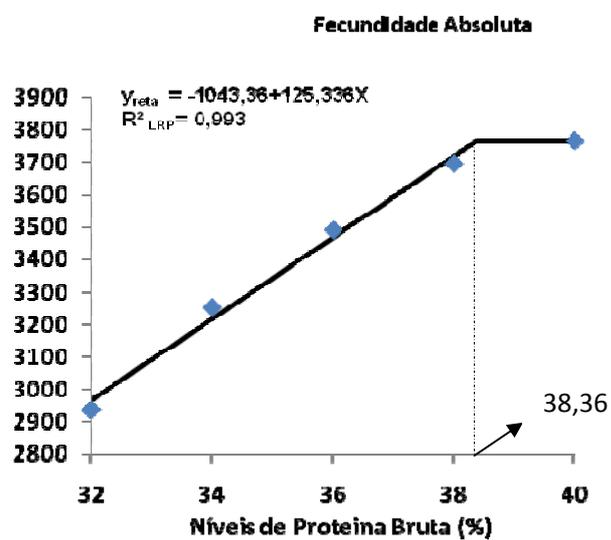


Figura 2 Fecundidade Absoluta das fêmeas alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.

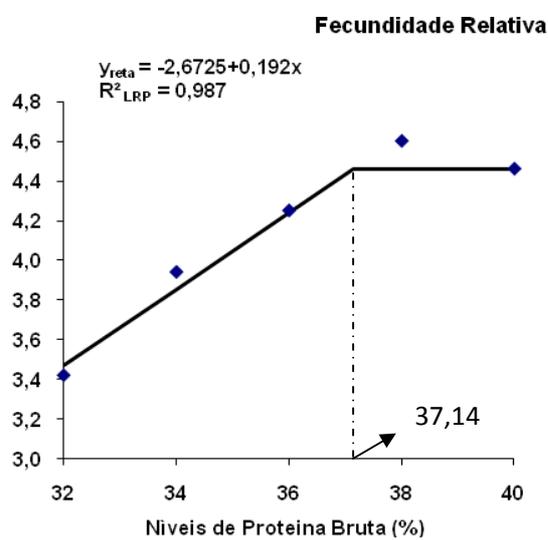


Figura 3 Fecundidade Relativa das fêmeas alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

A relação entre os níveis de proteína e os parâmetros reprodutivos é de extrema importância uma vez que a nutrição afeta significativamente a maturação de gametas e a fecundidade. No presente estudo observou-se que as fêmeas alimentadas com dieta com 38% de PB apresentaram maior fecundidade absoluta (3757) ovos/fêmea e maior fecundidade relativa (4,7) ovos/g de fêmea do que as fêmeas alimentadas com dieta com menor nível de proteína.

O nº de 3757 ovos/fêmea encontra-se dentro da faixa de 1.505 a 5.559 ovos por desova para tilápia do Nilo. Grandes variações na fecundidade em espécies diferentes de tilápias podem ocorrer dentro de uma mesma espécie, dependendo das condições de cultivo (GOMEZ-MARQUEZ et al., 2003).

O tamanho da fêmea influencia mais do que a idade na fecundidade e no número de ovos produzidos por desova. Messina et al. (2010) encontraram fecundidade de até 5.753 ovos por desova para tilápia azul (*O. aureus*). O nº de 4,7 ovos/g de fêmea encontra-se dentro da faixa observada por Bombardelli et al. (2010), estudando o efeito de níveis energéticos para fêmeas de tilápia.

Em peixes o sucesso da embriogênese depende da qualidade dos ovócitos, sendo que esta pode afetar a resistência dos embriões às condições adversas. Assim, um ovo de boa qualidade gera um embrião de boa qualidade (LAHNSTEINER; PATZNER, 2008). Vários estudos relatam que reprodutores que recebem dietas com nível de até 40% de PB produzem ovos maiores (MANISSERY et al., 2001; MUCHLISIN et al., 2006), valores próximo foram observado neste estudo.

O diâmetro dos ovos e o diâmetro dos ovócitos (Figuras 4 e 5) foram influenciados pelo nível de PB na dieta. Na análise de LRP realizada para diâmetro de ovos, foi observado um efeito linear com o platô (Figura 4) no nível de 38,34% de PB na dieta, o mesmo padrão de resposta foi observado para diâmetro de ovócitos, porém com o platô (Figura 5) no nível de 36,71% de PB na dieta.

Os peixes que receberam dietas com níveis de 38,34% de PB apresentaram maior diâmetro dos ovos, quando comparados com os peixes que receberam dietas com níveis inferiores a 38% de PB, demonstrando que o nível de proteína da dieta influenciou esta variável.

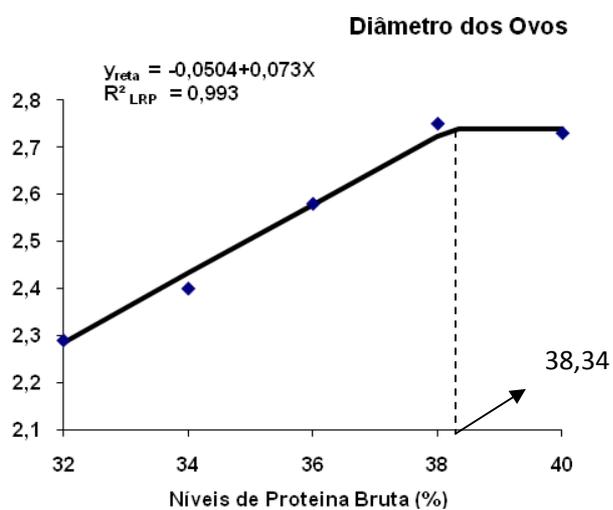


Figura 4 Diâmetros dos ovos das fêmeas tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta.

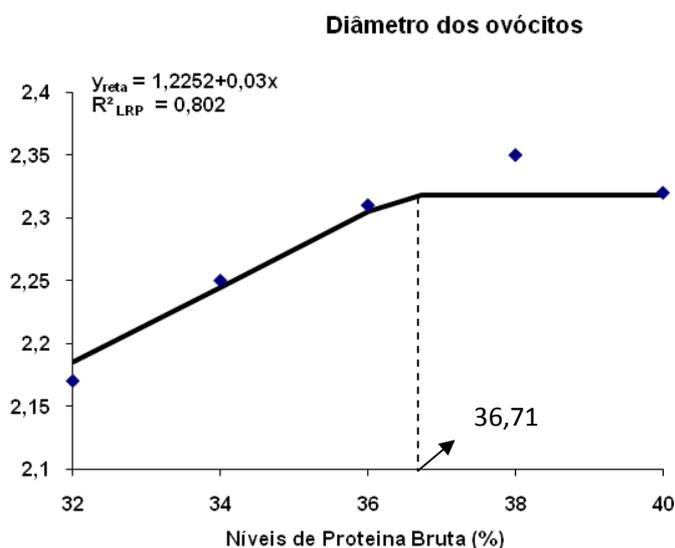


Figura 5 Diâmetros dos ovos das fêmeas tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

Os níveis de proteína influenciam o diâmetro dos ovos e embriões (GUNSEKERA et al., 2006), o diâmetro dos ovos e ovócitos neste trabalho, foram influenciados pelos níveis de PB, onde foi observado um maior diâmetro de ovos e ovócitos nos peixes que receberam dieta com 38,34 e 36,7% de PB sendo estes valores de 2,78 mm e 2,30 mm respectivamente. O valor de 2,78 mm para diâmetro de ovos encontra-se dentro dos valores relatados na literatura que é de 2,25 mm a 2,95 mm citados por Coward e Bromage (2000), para a espécie.

A maior deposição de nutrientes, refletindo em maior diâmetro dos ovos e ovócitos, pode estar relacionada com a maior capacidade de sobrevivência das larvas (Figura 6), onde foi observado que os reprodutores que foram alimentados com a dieta com 38% de PB, apresentaram larvas com maior capacidade de sobrevivência ao jejum ($p < 0.05$).

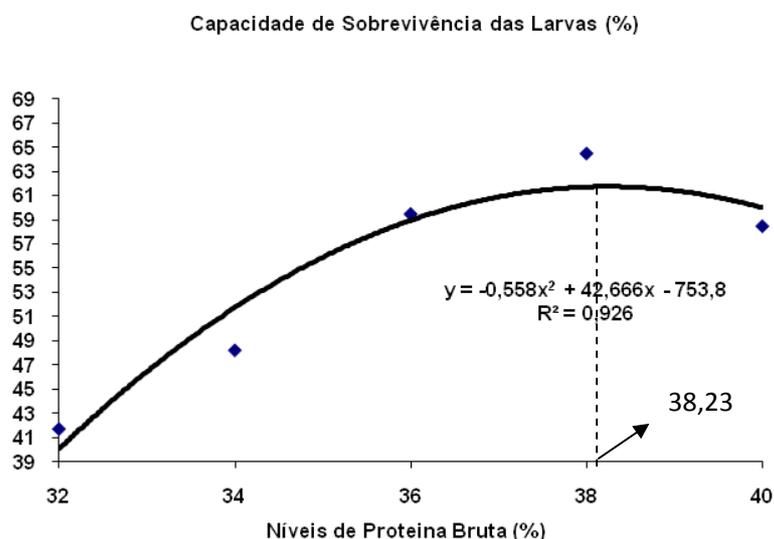


Figura 6 Capacidade de sobrevivência das larvas provenientes de fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

Este efeito dos níveis de proteína sobre o diâmetro de ovos e ovócitos pode estar relacionado com a maior deposição de nutrientes no vitelo alterando o diâmetro dos ovos e ovócitos. Deve-se considerar que neste estudo este aumento pode estar ocorrendo não só pela deposição de PB, mas também pode estar relacionado ao nível de óleo (4%) incluído na dieta com 38% de PB, uma vez as proteínas e lipídios são os principais componentes da dieta, estando presente no ovo e são utilizados como fontes de nutrientes durante a embriogênese. Trabalhando com níveis de proteína para tilápia (CHONG et al., 2004), observaram que a utilização de dietas com nível de proteína inadequado resulta em menor fecundidade.

Pode-se assim inferir que o diâmetro do ovo é uma variável importante na avaliação do desempenho reprodutivo dos peixes e que a diminuição do

diâmetro dos ovos esta relacionado com o aumento da má formação de larvas como observado por Biswas et al. (2005).

Sotolu (2010), estudando o efeito dos níveis de proteína sobre fêmeas de *Clarias gariepinus*, observou uma menor taxa de sobrevivência larval em dietas com níveis de proteína menor. O mesmo padrão de resposta foi observado neste estudo, onde larvas provenientes das fêmeas alimentadas com dietas contendo menor nível proteico (32%) apresentaram menor taxa de sobrevivência, e a maior taxa de sobrevivência foi observada para as larvas provenientes das fêmeas que receberam dietas contendo 38% de PB.

Este fato pode estar relacionado à exigência de proteína da espécie, dependendo das condições ambientais e de manejo em que se encontram. No caso específico deste estudo, o comportamento quadrático deste parâmetro demonstra que a inclusão de PB até 38% supre completamente a capacidade de reservas que serão utilizadas pela prole, sugerindo que qualquer percentual utilizado acima desse passa a não exercer efeito algum sobre a sobrevivência das larvas.

O nível de PB na dieta influenciou (Figura 7) o índice viscerossomático (IVS), para as fêmeas de tilápia ($p < 0.05$). Foi observado efeito quadrático para o IVS, com um maior nível para as fêmeas alimentadas com dietas com 36% PB.

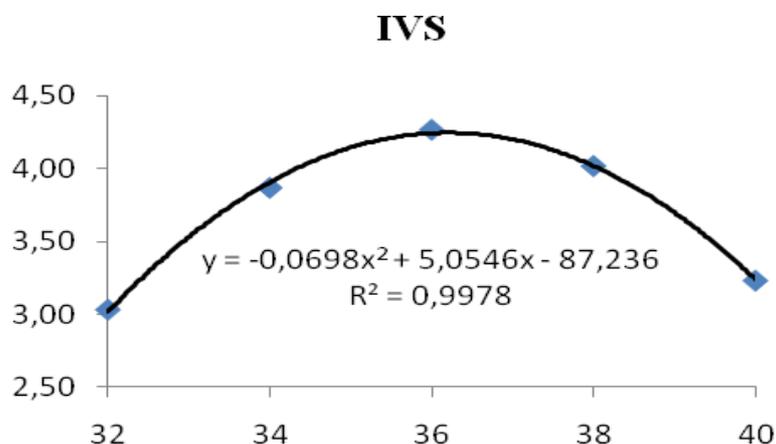


Figura 7 Índice Viscerosomático (IVS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

Este efeito para IVS sugere que ocorreu uma mobilização da gordura visceral para os ovários, durante o período de vitelogênese. Resultados semelhantes foram relatados por Oliveira et al. (1997), quando avaliaram índice de gordura viscerossomática em pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Du et al. (2009), avaliando rações purificadas com níveis de 25 a 45% de PB, com 9% de energia, para juvenis de carpas (*Ctenopharyngodon idella*) verificaram que, quanto maior os níveis de proteína, menor os IVS, IHS.

Os índices hepatossomáticos e viscerossomáticos têm sido utilizados como indicadores do período reprodutivo, correlacionados a outros fatores como o IGS. No presente estudo o IHS e IGS (Figuras 8 e 9), apresentaram uma relação inversa, a partir do nível de 36% PB. Esse comportamento sugere que a diminuição do peso do fígado pode estar relacionada com a mobilização das reservas energéticas necessárias para o processo de vitelogênese (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002).

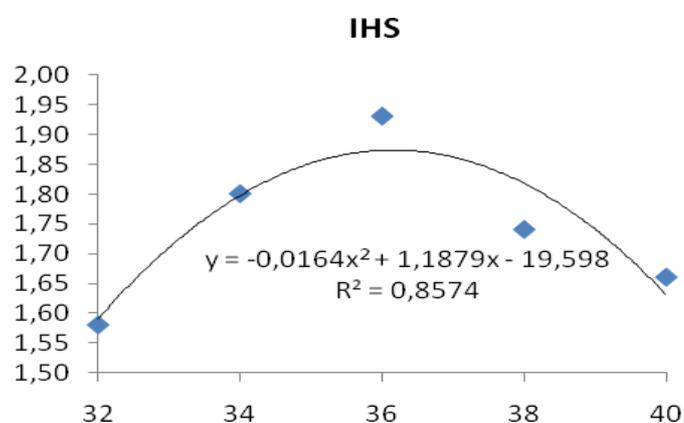


Figura 8 Índice Hepatosomático (IHS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

Entretanto, no presente estudo foi observado que com 36% de PB ocorre o máximo aumento para IVS e IHS (Figuras 7 e 8), para as fêmeas de tilápias. Estes resultados diferem dos encontrados por Coldebella et al. (2011), que trabalhando com níveis de 28, 34 e 40% de PB em dietas para fêmeas de *Rhamdia quelen*, não encontraram diferença estatística para peso do fígado e vísceras.

Porém, quando avaliado o IGS, ocorre um aumento linear do peso das gônadas até o nível de 38% à medida que foi aumentando o nível de PB da dieta. Apesar desse efeito, o modelo Linear Response Plateau (LRP) foi o que melhor se ajustou aos dados de IGS e estimou em 38,24% o nível de PB a partir do qual ocorreu um platô (Figura 9).

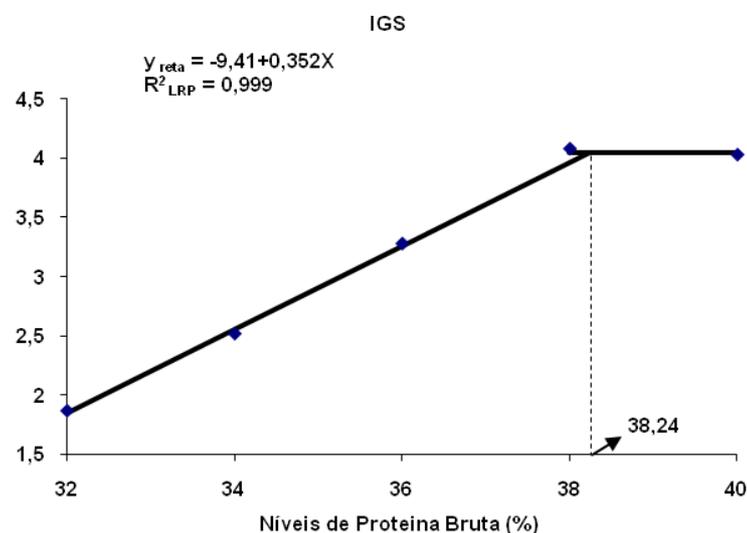


Figura 9 Índice Gonadosomático (IGS) das fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta

Os resultados para IGS diferem dos relatados por Gunasekera, Shim e Lam (1997), quando avaliados os níveis de proteína de 10, 20 e 35% para tilápia.

Os índices IHS e IVS podem ser aumentados dependendo da quantidade de nutrientes da dieta, neste caso os peixes convertem o excesso de energia dietética para gordura visceral (DU et al., 2006).

Neste estudo o IHS apresentou efeito quadrático (Figura 8) em função dos níveis de proteína. O maior IHS foi observado para as fêmeas alimentadas com dietas com 36% de PB. Os valores do índice IHS estão inversamente relacionados aos níveis de PB na dieta, quanto, maiores os níveis de PB na dieta, a partir do nível de 36% PB ocorreu um decréscimo do IHS.

Esse comportamento pode estar relacionado à quantidade de reservas energéticas depositadas no fígado durante os primeiros meses de experimento, onde os animais estavam em descanso reprodutivo, pois posteriormente os

indivíduos iniciaram a maturação gonadal e essa reserva foi transferida, diminuindo assim os valores do IHS.

O fígado apresenta um papel importante na reprodução, pois ele expressa receptores de estradiol, que quando ativados determinam a síntese de vitelogenina. Esta proteína via corrente sanguínea, é depositada nos ovócitos pré-vitelogênicos, acarretando no aumento das gônadas (MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010), o que determina um aumento do IGS.

Barbieri et al. (2000), explicam que o decréscimo do IHS, seguido pelo aumento do IGS em fêmeas, é decorrente do aumento da atividade hepática por maior demanda de vitelo para os ovócitos em crescimento.

Isto provavelmente pode explicar o aumento do número e do diâmetro de ovos pelas fêmeas alimentadas com dietas contendo 38% de PB. Em peixes, durante o período de maturação gonadal, ocorre um acúmulo de energia, principalmente durante a mobilização da fase vitelogênica, quando grandes quantidades de proteína e lipídio vindo da dieta e dos tecidos somáticos e de reservas, são sintetizados pelo fígado e, em seguida, absorvidos e armazenados em oócitos, para serem utilizados no desenvolvimento embrionário (BABIN; CERDÀ; LUBZENS, 2007).

Estudos vêm dando ênfase à relação entre parâmetros associados ao estado nutricional e o ciclo reprodutivo de peixes (BARROS et al., 2011). O desenvolvimento reprodutivo requer a utilização dos nutrientes obtidos a partir da alimentação, mas principalmente de reservas energéticas armazenadas em diferentes órgãos do corpo. Sendo assim é de se esperar que o peso do fígado reflita tal fato (AGOSTINHO et al., 1990). No presente estudo observa-se que houve uma diminuição do IVS e no IHS nas dietas com níveis de PB acima de 36%. Este comportamento provavelmente pode ser devido ao aumento do peso das gônadas nas fêmeas que receberam dietas com níveis acima de 36% de PB, já que estes peixes estavam no período reprodutivo, onde as reservas energéticas

pode ter sido utilizadas na síntese de vitelogenina que é secretada é seletivamente removida da corrente sanguínea para o desenvolvimento dos ovócitos, o rápido acúmulo do vitelo provavelmente acontece pelo decréscimo do peso do fígado (YONEDA et al., 2001).

3.3 Parâmetros Sanguíneos

Os valores médios e desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros sanguíneos: hemoglobina (Hb), hematócrito (Hct) e (ALB) plasmática então relacionada na Tabela 3.

Tabela 3 Parâmetros sanguíneos de fêmeas de tilápia alimentadas com dietas com diferentes níveis de proteína bruta (%)

Níveis PB na dieta (%)	Hb (g/dL)	Hct (%)	ALB (g/dL)
32	12,00±0,07	39,68±7,07 ^a	3,17±0,17
34	12,20±0,13	46,61±5,64 ^b	3,24±0,41
36	12,27±0,07	47,45±5,43 ^b	3,38±0,26
38	12,30±0,01	48,01±4,24 ^b	3,60±0,16
40	12,37±0,06	48,03±2,71 ^b	3,65±0,27
CV (%)	0,68	11,02	8,50
Média dos tratamentos	12,22	47,95	3,40

As características hematológicas normais de peixes saudáveis, nos diversos sistemas de criação, também devem ser conhecidas para identificar as alterações fisiológicas derivadas da nutrição e de fatores ambientais (ARAÚJO et al., 2011; RANZINI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004). Os valores do hematócrito (Hct) e hemoglobina (Hb) nas fêmeas de tilápia encontram-se variando de 39,68% a 48,03%; 12,00 a 12,37 g/dL, respectivamente. Estes resultados encontram-se próximo aos observados por Serra et al. (2011) para piau (*Leporinus friderici*, Bloch 1794). Buenaño (2010), avaliando o perfil hematológico em diferentes etapas de produção de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) encontrou valores

de 72,65% para hematócrito e 13,28 g/dL de hemoglobina em fêmeas reprodutoras.

Em geral, há uma correlação entre os valores de hemoglobina e hematócrito, pois estão relacionados com a atividade e habitat dos peixes (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). O aumento de hemoglobina pode ser decorrente do aumento do consumo de oxigênio, isso pode ocorrer durante a resposta ao estímulo estressante, nessas situações e aumento estaria relacionado com a maior capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue (NIKANMAA et al., 1983).

O sangue contém diversos tipos de proteínas que estão sujeitas às alterações patológicas e fisiológicas resultantes, por exemplo, do estresse. A dosagem da concentração de proteína total do plasma e de suas frações auxilia no diagnóstico e prognóstico do estado de hidratação, bem como de inflamação, infecção, estado nutricional e alteração na síntese protéica (SANTANA et al., 2008). Os valores de 3,70 g/dL para ALB neste estudo (Tabela 3), encontra-se próximo dos relatados na literatura, de 4,28 g/dL citados por Buenaño (2010) para reprodutores de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

As proteínas plasmáticas (PP) possuem inúmeras funções no organismo que são imprescindíveis para a manutenção da homeostase nos vertebrados, entre as funções estão à formação da estrutura celular, catalisação de reações bioquímicas e transporte de metabólitos (ECKERSALL, 2008).

No presente estudo foi observado um efeito linear em função dos níveis de proteína da dieta para proteína plasmática total (PPT), (Figura 10), efeito também observado para fêmeas de *Rhamdia quelen*, por (COLDEBELLA et al., 2011). O aumento de PPT pode estar relacionado ao aumento da vitelogenina circulante, e sua utilização para formação do saco vitelínico.

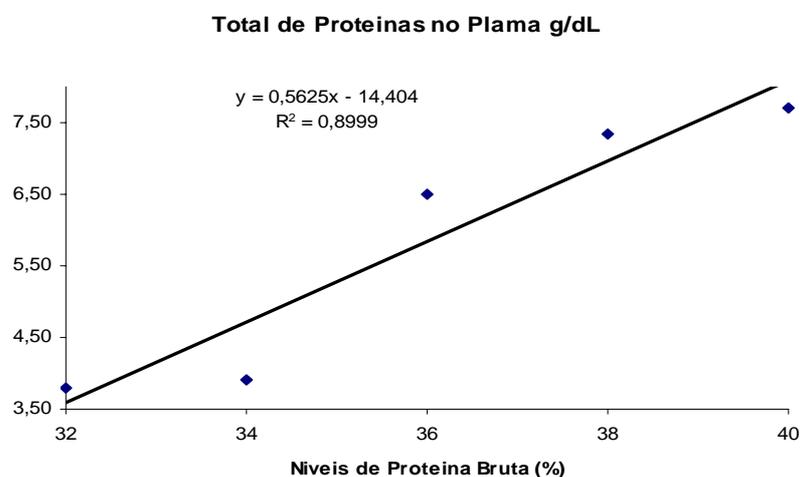


Figura 10 Proteína total do plasma de tilápias alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta

Os resultados de PPT deste estudo diferem dos valores relatados por Tavares-Dias et al. (2009). Estes autores definiram o intervalo de 5,0 a 5,4 g/dl de PPT para híbridos *Pseudoplatystoma*, com peso de 568 a 1350 g. Buenaño (2010), trabalhando para reprodutores de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), encontrou valores de 6,59 g/dL esta diferença PPT provavelmente diferem entre as espécies.

A concentração de triglicerídeos no sangue é influenciada pelo teor de gordura da dieta e, desta forma, é um importante componente sanguíneo a ser avaliado na utilização de novas dietas (BOON; TRILLART; ADDINK, 1991; THRALL et al., 2006). Os triglicerídeos são lipídeos que aparecem no sangue ligados à proteínas, formando o complexo denominado lipoproteína. No presente estudo os níveis de PB da dieta influenciaram os triglicerídeos sendo que o LRP foi o modelo de melhor ajuste para esse parâmetro e estimou em 36,98% o nível de PB a partir do qual ocorreu um platô (Figura 11). Estes resultados diferem

dos relatados por Coldebella et al. (2011), que trabalhando com níveis de (28, 34 e 40%) de proteína para *Rhamdia quelen*, observaram que os triglicerídeos tendem a aumentar com dietas com maiores níveis proteicos.

Segundo Regost et al. (2001), em peixes o aumento do lipídio da dieta provoca incremento dos triglicerídeos circulantes, indicando realização de lipogênese. Sendo assim podemos inferir que o efeito encontrado deste estudo para os triglicerídeos pode estar relacionado ao nível de óleo incluído na dieta.

No presente estudo este comportamento pode estar relacionado ao destino dos aminoácidos livres oriundos da degradação protéica. As dietas com maiores níveis de proteína dão origem a uma maior quantidade de aminoácidos livres que provavelmente seguem a rota metabólica do catabolismo onde após o processo de desaminação das moléculas de proteína, ocorre a formação de esqueletos de carbono que são utilizados para a produção de energia ou para a lipogênese.

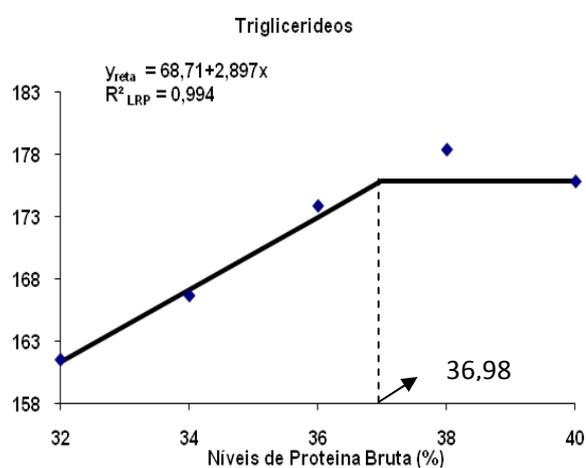


Figura 11 Triglicerídeos plasmáticos de tilápias alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta

Este efeito pode determinar aumento dos depósitos de lipídios corporais, determinando uma maior precocidade dos peixes, já que a reprodução está diretamente relacionada com a alimentação (DUFOUR et al., 2000). Como foi observado um efeito linear crescente até o nível de 36,98% PB da dieta para triglicerídeos e de 38,24% PB da dieta para o peso das gônadas, pode-se inferir que este intermediário circulante foi depositado no tecido intersticial das gônadas.

4 CONCLUSÃO

Estudos com reprodutores de peixes têm demonstrado necessidade de suplementação de nutriente de boa qualidade, principalmente no início do desenvolvimento gonadal e no período da vitelogênese. Neste estudo os níveis de proteína bruta da dieta influenciaram positivamente nas características reprodutivas como índices somáticos (gonadosomático, hepatosomático e viscerosomático), nos parâmetros reprodutivos (fecundidade absoluta, fecundidade relativa das fêmeas), diâmetro de ovos, capacidade de sobrevivência das larvas, estes resultados refletem em uma maior produção de larvas e alevinos. Conclui-se neste trabalho que a dieta formulada com 38% de PB com uma relação de ED/g de PB de 9,5 foi à melhor dieta durante o período reprodutivo para fêmeas de tilápias.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A. et al. Variação do fator de condição e do índice hepatossomático e suas relações com o ciclo reprodutivo em *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) no Rio Paranapanema, Porecatu. **Ciência & Cultura**, São Paulo, v. 42, n. 9, p. 711-714, 1990.
- ARAÚJO, D. M. et al. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 294-302, mar. 2011.
- BABIN, P. J.; CERDÀ, J.; LUBZENS, E. (Ed.). **The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications**. Dordrecht: Springer, 2007. 76 p.
- BALLESTRAZZI, R. et al. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, Surrey, v. 11, n. 3, p. 289-299, Mar. 2003.
- BARBIERI, G. et al. Biologia populacional da tilápia, *Oreochromis niloticus*, da represa de Guarapiranga, São Paulo: I., estrutura da população, idade e crescimento. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2000.
- BARROS, N. H. C. et al. Aspectos reprodutivos de *Pimelodella gracilis* (Valenciennes, 1835) (Osteichthyes: Pimelodidae) do açude da Ecoregião Caatinga. **Revista Biotá Amazonia Macapá**, Amapá, v. 1, n. 2, p. 53-59, 2011.
- BHUJEL, R. C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially haplo-based systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 181, n. 1/2, p. 37-39, Jan. 2000.
- BISWAS, A. K. et al. Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 243, n. 1/4, p. 229-239, Jan. 2005.
- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 1, p. 535-548, Feb. 2010.
- BOMBARDELLE, R. A. et al. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 941-949, maio 2010.

BOON, J. van der. The effect of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Vancouver, v. 1, p. 47-53, 1991.

BOTARO, D. et al. Redução da proteína em dietas para a tilápia-do-nylo (*oreochromis niloticus*), criada em tanques-rede, pela suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 3, p. 517-525, maio/jun. 2007.

BUENAÑO, C. M. V. **Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador**. Sangolquí: Laboratorios IASA, 2010. 14 p. (Boletim Técnico, 9. Serie Zoológica, 6).

CHONG, A. et al. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, n. 1/4, p. 381-392, May 2004.

COLDEBELLA, I. J. et al. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 312, n. 1, p. 137-144, Jan. 2011.

COLLIER, H. B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 50, n. 6, p. 550-552, June 1944.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, v. 10, n. 1, p. 1-25, Mar. 2000.

DU, Z. Y. et al. Effect of dietary energy to protein ratios of growth performance and feed efficiency of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **The Open Fish Science Journal**, Surrey, v. 2, n. 1, p. 25-31, Mar. 2009.

_____. The influence of feeding rate on growth feed efficiency and body composition of juve Nile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Internacional**, Surrey, v. 14, p. 247-257, 2006.

DUFOUR, S. et al. Puberty in teleosts: new insights into the role of peripheral signals in the stimulation of pituitary gonadotropins. In: INTERNATIONAL

SYMPOSIUM ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 6., 2000, John Grieg. **Proceedings...** John Grieg: SPF, 2000. p. 455-461.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego: Academic, 2008. p. 122-127.

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**, Amsterdam, v. 248, n. 1/4, p. 187-196, July 2005.

EUCLIDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatística e Genética)**. Viçosa, MG: UFV, 1983. 59 p.

FURUYA, W. M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010. 100 p.

GOLDENFARB, L. M. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. **American Journal of Clinical Pathology**, Baltimore, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

GÓMEZ-MÁRQUEZ, J. L. B. et al. Reproductive aspects of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) at Coatetelco lake, Morelos, Mexico. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 51, n. 1, p. 221-228, 2003.

GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 1/2, p. 121-134, Oct. 1996a.

_____. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 3/4, p. 245-259, Nov. 1996b.

JOHNSTON, A. T. et al. Hatching success of walleye embryos in relation to maternal and ova characteristics. **Ecology of Freshwater Fish**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 295-306, Sept. 2007.

LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R. A. Sperm morphology and ultrastructure in fish. In: ALAVI, S. M. H. et al. (Ed.). **Fish spermatology Alpha Science International**. Oxford: Elsevier, 2008. p. 2-61.

LAVENS, P. et al. Effects of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. **Aquaculture Internacional**, Surrey, v. 7, n. 4, p. 225-240, July 1999.

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, 1995. p. 277-320.

MANISSERY, J. K. et al. Effects of varied levels of dietary protein on the breeding performance of common carp *Cyprinus carpio*. **Asia Fisheries Science**, Selangor, v. 14, p. 317-322, Sept. 2001.

MESSINA, E. P. et al. Growth, mortality and reproduction of the blue tilapia *Oreochromis aureus* (Perciformes: Cichlidae) in the Aguamilpa Reservoir, México. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 58, n. 4, p. 1577-1586, 2010.

MUCHLISIN, Z. A.; ROSHADA, H.; ALEXANDER, C. S. C. Influence of dietary protein levels on growth and egg quality in broodstock female bagrid catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 416-418, Mar. 2006.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 3/4, p. 379-392, Sept. 2010.

NIKANMAA, M. et al. Handling stress in brown trout (*Salmo trutta*): physiological responses to transport in fresh water: and recovery in natural brackish water. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 34, n. 1, p. 93-99, 1983.

OLIVEIRA, E. G. et al. Índice gordura viscerossomática e níveis de lipídio total em diferentes tecidos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1897). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 24, p. 97-103, 1997.

QUEROL, M. V. M.; QUEROL, E.; GOMES, N. N. A. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 92, n. 3, p. 1-112, 2002.

RANA, K. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry: I., gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 165-181, June 1990.

RANZINI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZINI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p. 89-120.

REGOST, C. et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 193, n. 3/4, p. 291-309, Feb. 2001.

SANTANA, A. M. et al. Proteinograma sérico de veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) criados em cativeiro obtido por eletroforese em gel de agarose e de poliacrilamida (SDS PAGE). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 6, p. 1560-1563, 2008.

SERRA, M. et al. Physiological responses of piau (*Leporinus friderici*, Bloch 1794) to transportation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 12, p. 2641-2645, dez. 2011.

SILVA, S. S.; NGUYEN, T. T. T.; INGRA, B. A. Fish reproduction in relation to aquaculture. In: ROCHA, M. J.; ARUKWE, A.; KAPPOR, B. G. (Ed.). **Fish reproduction**. Enfield: Science, 2008. p. 535-575.

SOTOLU, A. O. Effects of varying dietary protein levels on the breeding performance of *Clarias gariepinus* broodstocks and fry growth rate. **Livestock Research for Rural Development**, Amsterdam, v. 22, n. 67, 2010. Disponível em: <<http://www.Irrd.org/Irrd22/4/soto22067.htm>>. Acesso em: 5 dez. 2011.

TAVARES DIAS, M. et al. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: SARAN-NETO, M. W. S.; POZZOBON-SORIA, S. (Ed.). **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009. p. 43-80.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004. 144 p.

THRALL, M. A. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Rocca, 2006. 582 p.

YONEDA, M. et al. Reproductive cycle, fecundity and sazonal distribution of the anglerfish *Lophires litulon* in the East China and Yellow seas. **Fisheries Bulletin**, London, v. 99, n. 2, p. 356-370, 2001.

ARTIGO 2 Efeitos dos níveis de proteína bruta sobre a qualidade espermática de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*)

Marinez M. de Oliveira¹

Mônica R. Ferreira², Estefânia S. Andrade², Viviane O. Felizardo², Luis D. S. Murgas²; Marcilia B.Goulart²

Ivan B. Allaman³

Priscila Vieira Rosa⁴

Artigo submetido ao Journal of the World Aquaculture Society (JWAS)

-
- ¹ Departamento de Ciências Veterinárias, Campus Universitário - Universidade Federal de Lavras, 37200-00 Lavras/MG, Brasil. Email: marinez.moraes@ig.com.br
- ² Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras, 37200-00 Lavras/MG, Brasil
- ³ Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz - Ilheus/BA, Brasil
- ⁴ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, 37200-00 Lavras/MG, Brasil

RESUMO

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo de machos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB). Foram utilizados 15 reprodutores, com idade média de 30 meses. Os mesmos foram estocados em dez tanques com dimensões de 8 m³, onde os tratamentos consistiam de cinco rações com diferentes níveis de proteína bruta (32, 34, 36, 38, 40%) e com uma relação de energia digestível por grama de proteína de 9,5/kg de ração. Para o experimento de sêmen in natura, a análise estatística foi procedida segundo um delineamento inteiramente casualizado. Para o experimento de sêmen diluído também foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 5x2, ou seja, 5 níveis de proteína e 2 crioprotetores. As variáveis índices hepatossomático (IHS), gonadossomático (IGS), taxa e duração da motilidade espermática do sêmen in natura de machos de tilápia do Nilo não foram influenciados ($p > 0,05$) pelos níveis de proteína bruta das rações. Após a diluição constatou-se diferença significativa para as variáveis motilidade ($p = 0,053$) e duração da motilidade ($p = 0,021$). Houve efeito de quarto e terceiro grau para as variáveis taxa ($p = 0,0349$) e duração ($p = 0,0220$) da motilidade. Como estes ajustes não possibilitaram uma interpretação biológica efetuou-se o teste de comparação múltipla de Tukey. A ração com nível de proteína bruta de 36% apresentou taxa de motilidade média semelhante ($p > 0,05$) aos tratamentos com 32, 34 e 40% de proteína bruta e taxa de motilidade média inferior ($p < 0,05$) ao tratamento com 38% de proteína bruta. Para a variável duração da motilidade os peixes alimentados com 38% e 40% de proteína bruta apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) apenas com o grupo de peixes alimentados com 34% de proteína bruta. Conclui-se que os níveis de 32, 38 e 40% de proteína bruta na ração não deterioram a qualidade do sêmen e podendo ser utilizados na ração de reprodutores de tilápia. Como a proteína é um insumo caro, é possível inferir que 32% de proteína bruta é suficiente para determinar uma boa qualidade de gametas.

Palavras-chave: Tilápia. Reprodução. Sêmen. Criopreservação. Macho.

ABSTRACT

This work aimed the evaluation of reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) males, fed diets containing different Crude Protein (CP) levels. 15 broodstock males with average age of 30 months were used. They were stocked in ten tanks with dimensions of 8 m³, in which the treatments consisted in five diets with different levels of crude protein (32, 34, 36, 38 and 40%) and with digestible energy per gram of protein of 9.5/kg of feed. For the in natura semen experiment, the statistical analysis used completely randomized design. For the experiment of diluted semen, the completely randomized design was also used, with a factorial scheme of 5 x 2, that is, 5 levels of protein and 2 cryoprotectants. The hepatosomatic indexes (HIS), gonadosomatic indexes (GSI), rate and duration of Nile tilapia males in natura semen motility variables were not influenced ($p>0.05$) by the crude protein levels in the diets. After the dilution, significant differences were observed for the motility variables ($p=0.053$) and motility duration ($p=0.021$). Forth and third degree effects occurred for the rate ($p=0.0349$) and duration ($p=0.0220$) motility variables. As these adjustments do not allow a biological interpretation, the Tukey multiple comparison test was used. The diet with 36% crude protein level presented average motility rate similar ($p>0.05$) to the treatments with 32, 34 and 40% crude protein and average motility rate inferior ($p<0.05$) to the treatment with 38% crude protein. For the motility duration variable, the fish fed with 38% and 40% crude protein presented significant difference ($p<0.05$) with only the group of fish fed with 34% crude protein. It is concluded that 32, 38 and 40% crude protein levels in the diet do not deteriorate semen quality and may be used in tilapia broodstock diet. As protein is an expensive input, it is possible to infer that 32% crude protein is sufficient to determine good quality gametes.

Key-words: Tilapia. Reproduction. Semen. Cryopreservation. Male.

1 INTRODUÇÃO

As tilápias constituem-se o segundo grupo de peixes de maior importância na aquicultura mundial. Destaca-se por apresentar rápido crescimento, rusticidade, carne de excelente qualidade com boa aceitação no mercado e maturidade sexual precoce. Enquanto muitos estoques pesqueiros naturais já se encontram em seu limite máximo de exploração, a produção de pescado pela aquicultura tem aumentado muito nos últimos anos, para atender o mercado (Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO, 2010; Bosma & Verdegem, 2011). Porém é imprescindível o aprimoramento de técnicas de cultivos juntamente com o avanço tecnológico na nutrição e na alimentação, não só no desempenho produtivo, mas também no desenvolvimento reprodutivo dos peixes, a fim de garantir maior produção de gametas, e maior desenvolvimento de larvas e alevinos que é uma das principais dificuldades para o desenvolvimento da aquicultura.

Os estudos de nutrição dos reprodutores são ainda limitados e relativamente caros, devido à necessidade de instalações de grandes dimensões e para manter grandes grupos de peixes adultos e aos custos de produção elevados para conduzir experimentos de alimentação prolongada. Entre os nutrientes importantes na dieta para reprodutores, encontra-se a proteína, que determina o aumento do desempenho reprodutivo (Sotolu, 2010). Porém, trata-se de um componente oneroso, no processo de fabricação de rações, aumentando os custos de produção, sendo necessários estudos para definição da exigência de proteína para cada espécie de peixe (Muchlisin et al., 2006; Craig & Helfrich, 2009).

O desenvolvimento gonadal e especialmente a qualidade dos gametas dependem da qualidade das dietas oferecidas para os reprodutores (Izquierdo et al., 2001). As proteínas estão presentes nos gametas dos peixes como

lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade do ovo e a produção de peixes em larga escala (Parra, 2010).

A criopreservação de semen é uma biotecnica utilizada para a manutenção de espermatozoides viáveis, minimizando problemas como a sincronização entre machos e fêmeas durante a época reprodutiva, a consaguinidade e a seleção genética (Bromage & Roberts, 1995). Existem três fatores que influenciam na manutenção da qualidade espermática durante o congelamento: metodologia de congelamento e descongelamento, composição dos crioprotetores internos e externos e composição dos diluidores (Hajirezaee et al., 2010).

Diante disso, este experimento teve como objetivo avaliar o efeitos de diferentes níveis de proteína bruta na dieta de reprodutores machos de *Oreochromis niloticus*, sobre os parâmetros de qualidade espermática bem como avaliar a influência dos crioprotetores metanol e dimetilsulfóxido (DMSO), no congelamento de sêmen.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O presente experimento foi realizado, no período de 120 dias, na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da Eletrobrás/Furnas, na cidade de São José da Barra-MG, por meio de uma parceria entre a Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG e Eletrobrás-Furnas.

2.1.1 Animais e dietas

Foram utilizados 15 machos reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem Chitralada, com idade média de 30 meses, Os reprodutores foram alojados em cinco tanques de alvenaria com dimensões de 8 m³ com fluxo de água contínuo e com uma densidade de três peixes por tanque. Os tratamentos consistiram na oferta de rações com cinco diferentes níveis de proteína bruta (32, 34, 36, 38 e 40%) e com uma relação de energia digestível por grama de proteína de 9,5/kg de ração.

Foram elaboradas cinco dietas experimentais (Tabela 1) com diferentes níveis de proteína bruta (PB), formuladas de acordo com a tabela de composição química dos ingredientes, Furuya et al. (2005) e National Research Council - NRC (2011). Todos os ingredientes foram moídos, até atingirem diâmetro igual ou inferior a 0,04 mm. Os ingredientes foram pesados, homogeneizados e acrescentado água, na proporção de 20% do peso total da ração. As dietas foram peletizadas em peletizadora elétrica e secas em estufa de ventilação (50 °C), durante 24 horas.

Tabela 1 Ingredientes e composição calculada das dietas experimentais fornecidas aos machos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (com base na matéria seca)

Ingredientes (%)	Níveis de Proteína na dieta (%)				
	Relação de ED/g de PB de 9,5				
	32	34	36	38	40
Farelo de soja	48,00	53,80	57,50	64,00	68,65
Farinha de peixe (64%PB)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Milho	20,90	16,00	15,90	13,04	5,50
Farelo de Trigo	5,00	5,00	5,00	1,00	0,60
Alginato	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Óleo de Soja	0,20	2,00	2,00	4,00	7,80
Fosfato bicálcico	4,95	3,99	1,50	0,34	0,45
Vitamina C	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Sal	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Premix Vitamínico/Mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	3,65	1,61	0,50	0,10	0,10
BHT ²	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada					
Energiadigestível (Kcal/kg)	3.040	3.230	3.420	3.610	3.800
Proteína bruta (%)	32,04	34,24	36,25	38,19	40,05
Extrato etéreo	3,87	5,56	5,73	7,64	10,22
Fibra bruta (%)	3,74	3,99	4,39	4,30	4,42
Lisina	2,34	2,55	2,54	2,53	2,73
Metionina	0,53	0,55	0,58	0,55	0,58
Treonina	1,44	1,52	1,50	1,46	1,38

¹ Premix mineral e vitamínico: Composição/ kg do produto: vit. A = 900.000 UI; vit. D3 = 50.000 UI; vit. E=6.000 mg; vit. K3 = 1200 mg; vit. B1 = 2400 mg; vit. B2 = 2400 mg; vit. B6 = 2000 mg; vit.B12 = 4800 mg; ácido fólico = 1200 mg; pantotenato de cálcio = 12.000 mg; vit. C = 24.000 mg; biotina = 6,0 mg; colina = 65.000 mg; ácido nicotínico = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mn = 4000 mg; Zn = 6000 mg; I = 20 mg; Co = 2,0 mg e Se = 25 mg.

² Butil-Hidroxi-tolueno (antioxidante)

Os períodos de adaptação à ração e ao ambiente foram de dez dias onde os animais receberam uma ração de 32% PB. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (às 9 e às 15 h), com taxa diária de arraçoamento de 2% da biomassa. No período experimental os reprodutores foram alimentados com as rações experimentais (Tabela 1).

2.1.2 Parâmetros limnológicos

As variáveis limnológicas da água dos tanques foram mensuradas diariamente pela manhã, (condutividade, pH, oxigênio dissolvido e temperatura) com auxílio de sonda multiparâmetros digital duplo canal HQ40D, seguindo o protocolo da Estação de Piscicultura da Eletrobrás/Furnas.

2.1.3 Metodologia experimental

De cada tanque foram selecionados três machos, que foram pesados e medidos e em seguida foram transferidos para tanques de reprodução com capacidade para 200 L de água. Para extrusão do sêmen, os reprodutores foram retirados dos tanques, envoltos em toalhas secas, e tiveram suas papilas urogenitais secas com papel toalha, para evitar a ativação prévia do sêmen, mediante contato com água, fezes ou urina. A coleta foi realizada mediante massagem na cavidade celomática no sentido crânio caudal, sendo coletado em tubos de eppendorfs graduados.

Em seguida foram realizadas análises de taxa (%) e duração de motilidade (segundos). A análise foi realizada em microscópio óptico, mediante a ativação com água destilada em uma diluição de 1:4 (sêmen: água). A duração da motilidade foi determinada desde a ativação até que cerca de 10% dos espermatozoides estivessem móveis de acordo com metodologia empregada por Felizardo et al. (2010).

O sêmen que apresentou taxa de motilidade acima de 90% foi utilizado para criopreservação. Para tanto foram utilizados duas soluções crioprotetoras: Solução A: 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) + 5% de BTS (Beltsville thawing Solution®); Solução B: 10% de metanol + 5% de BTS. O sêmen *in natura* foi diluído numa proporção de 1:4 (sêmen:solução crioprotetora). Para avaliação da

toxicidade das soluções crioprotetoras, logo após a diluição foram verificadas a taxa e duração da motilidade espermática, conforme metodologia empregada para o sêmen *in natura*.

O sêmen diluído foi envasado em palhetas de 0,5 ml e posteriormente acondicionadas em botijão de vapor de nitrogênio (Taylor-Wharton Model CP 300, type dry shipper), onde permaneceram por um período de 24 horas, sendo posteriormente transferidas para um botijão de nitrogênio líquido onde foram mantidas por uma semana. Após este período o sêmen foi descongelado, mediante o mergulho das palhetas em banho maria a uma temperatura de 60 °C por 8 segundos. Após o descongelamento o sêmen foi novamente avaliado quanto à taxa e duração da motilidade, conforme metodologia descrita para a avaliação do sêmen *in natura*.

Em seguida os machos foram, submetidas à eutanásia por meio de uma solução de 2-fenoxietanol (0,06%) para dissecação e pesagem do fígado e gônadas e com estes dados foram calculados os seguintes índices:

Índice gonadosomático (IGS) = $[IGS=(PG+PSE)/PC*100$, onde PG é o peso da gônada, PSE é o peso do sêmen extrusado e PC é o peso do peixe];

Índice hepatossomático (IHS) = $[(\text{peso do fígado} * 100) / \text{peso do peixe}]$

2.1.4 Análise estatística

Para o experimento de sêmen *in natura*, a análise estatística foi procedida segundo um delineamento inteiramente casualizado, em que foi avaliado cinco níveis de proteína bruta (32, 34, 36, 38 e 40%) com três repetições. O modelo estatístico avaliado foi:

$$y_{ik} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ik}$$

em que:

y_{ik} = é a observação referente ao i -ésimo nível do fator τ e ao j -ésimo nível do fator β na k -ésima repetição;

μ = é uma constante associada a todas as observações;

τ_i = é o efeito do i -ésimo nível do fator τ , com $i=1,2,3,4$ e 5 ;

ε_{ik} = é o erro experimental referente ao fator i da repetição k , no qual

$$\varepsilon_{ik} \sim N(0, \sigma^2);$$

Para o experimento de sêmen diluído também foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 5×2 , ou seja, 5 níveis de proteína e 2 crioprotetores, totalizando 10 tratamentos com três repetições cada de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

y_{ijk} = é a observação referente ao i -ésimo nível do fator τ e ao j -ésimo nível do fator β na k -ésima repetição;

μ = é uma constante associada a todas as observações;

τ_i = é o efeito do i -ésimo nível do fator τ , com $i=1,2,3,4$ e 5 ;

β_j = é o efeito do j -ésimo nível do fator β , com $j=1,2,3,4$ e 5 ;

ε_{ijk} = é o erro experimental inerente a todas as observações, no qual

$$\varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2);$$

Os pressupostos da análise de variância (ANAVA) sobre os resíduos foi verificado por meio da função “shapiro.test” do pacote “stats” versão 2.15.1 (R Development Core Team, 2012) para normalidade e por meio da função “LeveneTest” do pacote “car” versão 2.10-12 (Fox & Weisberg, 2011) para homocedasticidade. Constatado diferenças entre as médias por meio da ANAVA, desdobrou-se a soma de quadrados dos tratamentos até o polinômio de grau quatro. Utilizou-se a função “TukeyC” do pacote “TukeyC” versão 1.0-7 (Faria et al., 2012) para o teste de comparações múltiplas de Tukey para as variáveis cujo o grau do polinômio foi acima de dois. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico R (R Development Core Team, 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Qualidade da água

Os valores médios para temperatura (C) de 22,47; condutividade de 36,45; pH de 7,43 e de Oxigênio dissolvido (mG L^{-1}) de 7,02, dos tanques durante o período experimental, encontram-se dentro dos limites recomendados para a reprodução de tilápias (Bhujel, 2000), e são considerados adequados para desenvolvimento embrionário inicial de tilápia (Rana, 1990).

3.1.1 Índices Reprodutivos

Os parâmetros reprodutivos como índices hepatossomático (IHS), índice gonadossomático (IGS), taxa e duração da motilidade espermática do sêmen *in natura* dos machos não foram influenciados ($p>0,05$) pelos níveis de proteína bruta. (Tabela 2).

Tabela 2 Índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), taxa de motilidade (MOT) e duração da motilidade (DUR) espermática do sêmen *in natura* de reprodutores de tilápia submetidos à alimentação com diferentes níveis de proteína bruta

Tratamento	IGS	IHS	MOT (%)	DUR (s)
32	0,70±0,37	1,43±0,34	98,33±2,89	450,00±132,07 1051,67±574,6
34	0,42±0,73	0,64±1,10	96,67±5,77	5
36	0,93±0,07	1,54±0,18	98,33±2,89	780,67±370,30 1078,33±241,8
38	0,54±0,55	0,98±0,85	100±0	7
40	0,87±0,90	0,91±0,80	98,33±2,89	726,00±344,71

O IHS pode aumentar dependendo da quantidade de nutrientes da dieta, neste caso os peixes convertem o excesso de energia dietética para gordura visceral (Du et al., 2006). Portanto os resultados encontrados neste estudo para IHS sugerem que a proteína da dieta não teve influência sobre esta variável. Resultados semelhantes foram relatados por Coldebella et al. (2011), que trabalhando com níveis de 28, 34 e 40% de proteína bruta em dietas para fêmeas reprodutoras de *Rhamdia quelen*, não encontraram diferença estatística para peso do fígado.

O IGS é utilizado para monitorar a progressão gamentogênese em peixes teleósteos (Barcellos et al., 2001), neste estudo o IGS não foi afetado pelo aumento do nível de proteína bruta de dieta (32, 34, 36, 38 e 40%). Estes resultados são semelhantes aos relatados por Gunasekera et al. (1997), quando avaliados os níveis de proteína de 10, 20 e 35% para tilápia.

Após a diluição do sêmen, não houve interação significativa ($p > 0,05$) entre níveis de proteína bruta e crioprotetores para nenhuma das variáveis avaliadas. Houve diferença significativa apenas entre os níveis de proteína bruta para as variáveis motilidade ($p = 0,053$) e duração da motilidade ($p = 0,021$). Observou-se ajuste polinomial de quarto grau significativo ($p < 0,05$) dos níveis de proteína bruta para variável motilidade e ajuste polinomial de terceiro grau significativo ($p < 0,05$) dos níveis de proteína bruta para variável duração da motilidade. Uma vez que este ajuste não remete a uma interpretação biológica, procedeu-se o teste de Tukey. Para motilidade os níveis de proteína com 32, 34, 38 e 40% foram semelhantes ($p > 0,05$), porém, os peixes alimentados com 38% de proteína bruta apresentaram motilidade maior ($p < 0,05$) que os peixes alimentados com 36%. Para a variável duração da motilidade os peixes alimentados com 38% de proteína bruta apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) apenas com o grupo de peixes alimentados com 34% de proteína bruta. (Tabela 3).

Tabela 3 Médias da motilidade (%) e duração da motilidade (s) após a diluição do sêmen de tilápias alimentadas com diferentes níveis de proteína e com diferentes crioprotetores

Níveis de proteína	Motilidade			Duração da motilidade		
	Crioprotetores			Crioprotetores		
	DMSO	Metanol	Média geral*	DMSO	Metanol	Média geral*
32	96,7±5,8	90±10	93,3±8,2 ab	811,7±295,4	514,7±289,0	663,16±125,68 ab
34	97,5±3,5	81,7±12,6	88,0±12,5 ab	367,0±86,3	256,3±72,7	300,60±40,43 b
36	78,3±24,7	73,3±37,9	75,8±28,7 b	807±518,8	463,3±453,6	635,16±193,82 ab
38	100±0,0	100±0,0	100,0±0 a	1103,7±125,4	956,7±163,6	1030,16±62,55 a
40	95±5,0	88,3±7,6	91,7±6,8 ab	927,7±462,6	971,3±503,9	949,50±176,90 a
Média geral	93,2±13,1	86,7±18,3	89,83±16,06	834,6±378,7	632,5±410,8	730±401,88

*Médias seguidas de letras distintas na coluna, diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Alguns trabalhos relacionados com a nutrição dos reprodutores de tilápia demonstram que a qualidade espermática é influenciada pela dieta fornecida aos reprodutores (Bombardelli et al., 2010). No entanto, os resultados demonstraram que os níveis de proteína bruta na ração não alteraram os parâmetros de motilidade e duração da motilidade do sêmen fresco. A qualidade do sêmen é medida pela composição seminal e motilidade (Rurangwa et al., 2004), isto porque após a ativação espermática os espermatozoides devem ter capacidade de atingir a superfície dos ovócitos e penetrar na micróplia (Hajirezaee et al., 2010).

Sendo assim, quanto maior a qualidade seminal, maior é a probabilidade de obter uma alta taxa de fertilização, sendo que o sêmen fresco de todos os tratamentos atingiram motilidade média acima de 96%. Através do teste de toxicidade da solução crioprotetora, mediante a diluição do sêmen, foi possível observar a manutenção das taxas de motilidade permanecerem acima de 70%.

Após o congelamento não houve diferença significativa ($p > 0,05$), como não foi observado diferença significativa para os tratamentos após o

descongelamento sugere-se que provavelmente pode ter havido influencia do processo de congelamento sobre os parametros seminiais avaliados uma vez que todos os tratamentos apresentaram baixa qualidade espermatica.

Quando comparados os niveis de proteina bruta ou os crioprotetores, os resultados do presente estudo são semelhantes aos relatados por Godinho et al. (2003), que não encontraram diferençaa significativa trabalhando com o metanol ou DMSO para sêmen de tilapias. O comportamento de motilidade e duração da motilidade do sêmen após o congelamento com diferentes crioprotetores pode variar dependendo da especie. Viveiros & Godinho (2009), citam que o DMSO e o crioprotetor mais utilizado para a maioria dos protocolos de criopreservação de sêmen em concentrações que variam de 5-15%. Já o metanol tem se mostrado mais efetivo para especies como o P. corruscans (Carosfeld et al., 2003).

A avaliação de motilidade espermatica após o congelamento é necessária para verificar a eficácia do crioprotetor em manter a viabilidade seminal pós-congelamento. Felizardo et al. (2010) relatam que o processo de criopreservação podem causar injurias às células espermaticas, o que resulta na diminuição da qualidade espermatica.

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados pode-se afirmar que este estudo os níveis de proteína bruta na dieta influenciaram nos parâmetros de qualidade espermática sendo suficiente para determinar uma criopreservação efetiva do semen. Porém estudos voltados a nutrição de reprodutores devem ser realizados, para elucidar os efeitos da proteína bruta na criopreservação de semen para determinar a eficiência deste nutriente após o congelamento, tentando assim promover um aumento da crioresistência seminal. Como a proteína é um insumo caro, propõe-se que os reprodutores possam ser alimentados com 32% de proteína bruta, sem perda da qualidade espermática.

REFERÊNCIAS

- Barcellos, LJG; VM Woehl; GF Wassermann; RM Quevedo; I Ittzés; MH Krieger 2001. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. *Aquaculture Research* 32(2):121-3.
- Bhujel, RC 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa-in-pod system. *Aquaculture* 194:303-14.
- Bombardelli, RA; C Hayashi; MRM Natali; EA Sanches; AP Piana 2010. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39(5):941-9.
- Bosma, RH; MCJ Verdegem 2011. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. *Livestock Science* 139:58-68.
- Bromage, NR; RJ Roberts 1995. Broodstock management and egg and larval quality. Elsevier, New York, USA.
- Carosfeld, J; HP Godinho; E Zaniboni Filho; BJ Harvey 2003. Cryopreservation of sperm in brazilian migratory fish conservation. *Journal Fish Biology* 63:472-89.
- Coldebella, IJ; J Radunz Neto; CA Mallmann; CA Veiverberg; GT Bergamin; FA Pedron; D Ferreira; LJG Barcellos 2011. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. *Aquaculture* 312:137-44.
- Craig, S; LA Helfrich 2009. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperative Extension Service Publication, Berkeley, USA.
- Du, ZY et al. 2006. The influence of feeding rate on growth feed efficiency and body composition of juve nile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Internacional* 14:247-57.

Felizardo, VO; RA Mello; LDS Murgas; ES Andrade; MM Drumond; PV Rosa 2010. Effect of cryopreservant combinations on the motility and morphology of curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm. *Animal Reproduction Science* 122:259-63.

Food and Agriculture Organization of the United Nations 2010. The state of world fisheries and aquaculture 2008. Rome, Italy. Available from: <<http://www.fao.org>>.

Furuya, WM; D Botaro; RMG Macedo; VG Santos; LCR Silva; TC Silva; VRB Furuya; PJP Sales 2005. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(5):1433-41.

Godinho, HP; VMC Amorim; MTD Peixoto 2003. Criopreservação do sêmen de tilápia-nilótica *Oreochromis niloticus*, var. Chitralada: crioprotetores, soluções ativadoras e refrigerador criogênico. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32(6):1537-43.

Gunasekera, RM; KF Shim; TJ Lam 1997. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 152:205-21.

Hajirezaee, S; B Mojazi Amiri; A. Mirvaghefi; A. Sheikh 2010. Ahmadi Czech. *Journal Animal of Science* 55(10):445-55.

Izquierdo, MS; H Fernandez-Palacios; A Tacon 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197(1):25-42.

Faria, JC; E Jelihovschi; IB Allaman 2012. TukeyC: convencional tukey test. R package version 1.0-7. Available from: <<http://CRAN.R-project.org/package=TukeyC>>.

Fox, J; S Weisberg 2011. An {R} companion to applied regression. 2nd ed. Sage, Thousand Oaks, USA. Available from: <<http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>>.

Muchlisin, ZA; R Hashim; ASC Chong 2006. Influence of dietary protein levels on growth and egg quality in broodstock female Bagrid catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Aquaculture Research* 37:416-8.

National Research Council 2011. National Academies. Washington, USA.

Parra, JEG et al. 2010. Desempenho reprodutivo de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes fontes protéicas. *Archivos de Zootecnia* 59(226):255-65.

R Development Core Team 2012. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <<http://www.R-project.org/>>.

Rana, K 1990. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry: I., gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture* 87:165-81.

Rurangwa, E; DE Kime; F Ollevier 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234:1-28.

Sotolu, AO 2010. Effects of varying dietary protein levels on the breeding performance of *Clarias gariepinus* broodstocks and fry growth rate. *Livestock Research for Rural Development* 22(4). Available from: <<http://www.irrd.org/irrd22/4/soto22067.htm>>.

Viveiros, ATM; HP Godinho 2009. Sperm quality and cryopreservation of brasilian freshwater fish species: a review. *Fish Physiology Biochemistry* 35:137-50.

VERSÃO PRELIMINAR