



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA



CAMPUS DE JABOTICABAL

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

**Jaboticabal, São Paulo
2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

**Jaboticabal, São Paulo
2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Dietas práticas para reprodutores de
tilápia-do-nilo**

Manoel Joaquim Peres Ribeiro

Orientador: Elizabeth Romagosa

Co-orientador: Giovani Sampaio Gonçalves

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

**Jaboticabal, São Paulo
2016**

R484d Ribeiro, Manoel Joaquim Peres
Dietas práticas para reprodutores de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* / Manoel Joaquim Peres Ribeiro. -- Jaboticabal, 2016
vii, 54 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2016

Orientador: Elizabeth Romagosa

Coorientador: Giovani Sampaio Gonçalves

Banca examinadora: Leonardo Tachibana, Neuza Sumico

Takahashi, Renata Guimarães Moreira, Vander Bruno Dos Santos

Bibliografia

1. Nutrição. 2. Desempenho reprodutivo. 3. Sêmen. 4. Pós-larvas.
I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.03

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

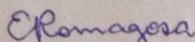
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Dietas praticas para reprodutores de tilápia-do-Nilo.

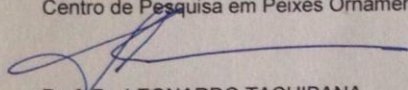
AUTOR: MANOEL JOAQUIM PERES RIBEIRO

CO-ORIENTADOR: GIOVANI SAMPAIO GONCALVES

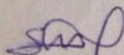
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



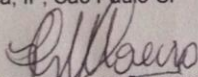
Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA
Centro de Pesquisa em Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



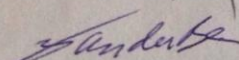
Prof. Dr. LEONARDO TACHIBANA
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



Profa. Dra. NEUZA SUMICO TAKAHASHI
Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP



Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA
Departamento de Fisiologia Geral / Instituto de Biociências, IB/USP, São Paulo-SP



Prof. Dr. VANDER BRUNO DOS SANTOS
Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP

Jaboticabal, 30 de março de 2016

Sumário

Agradecimentos.....	viii
Apoio financeiro	1
1. Resumo	2
2. Abstract.....	3
3. Introdução.....	4
4. Objetivos.....	5
4.1. Objetivo geral	5
4.2. Objetivos específicos	5
5. Referências.....	7
Desempenho reprodutivo de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína.....	9
1. Resumo	9
2. Abstract.....	10
3. Introdução.....	11
4. Material e métodos	12
4.1. Localização e período	12
4.2. Análise da água.....	12
4.3. Desenho experimental	12
4.4. Dietas experimentais.....	13
4.5. Coleta de ovos	14
4.6. Coleta de sêmen	15
4.7. Coleta e análises de sangue	15
4.8. Análise estatística	16
5. Resultados.....	16
5.1. Análise da água.....	16
5.2. Parâmetros morfométricos	16
5.3. Parâmetros reprodutivos	17
5.4. Parâmetros sanguíneos	19
6. Discussão	20
7. Agradecimentos.....	23
8. Referências.....	24
Reprodutores de tilápia-do-nilo de uma piscicultura comercial alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína	28
1. Resumo	28
2. Abstract.....	29

3. Introdução.....	30
4. Material e métodos	31
4.1. Localização e período	31
4.2. Análise da água.....	31
4.3. Desenho experimental	31
4.4. Dietas experimentais.....	32
4.5. Coleta de ovos	33
4.6. Coleta de sêmen	34
4.7. Coleta de larvas	35
4.8. Coleta e análises de sangue	35
4.9. Análise estatística	35
4.10. Análise econômica	36
5. Resultados.....	37
5.1. Análise da água.....	37
5.2. Parâmetros morfométricos	37
5.3. Parâmetros reprodutivos	38
5.4. Parâmetros sanguíneos	42
5.5. Análise econômica	43
6. Discussão	43
7. Agradecimentos.....	47
8. Referências.....	48
9. Perspectivas Futuras	52

Dedico

À minha avó Olezia, alicerce de nossa família, mulher das orações, o maior exemplo.

Ao meu irmão, meu parceiro, meu brother, mais novo do que eu, porém, como aprendo com esse cara.

Ao meu pai, meu amigo, um homem bom, apoiador nos meus caminhos, a referência para a formação do meu caráter.

À minha noiva, companheira de sempre, para sempre. Um dos pilares que me sustentam.

E a ela, minha maior incentivadora, nunca deixou a peteca cair, sempre rezando e dizendo uma palavra de otimismo, positivismo ali corre nas veias. É MÃE como tem que ser. Ensina o correto. Anda junto, sofre junto... saboreia a vitória junto!

Pois eu, o Senhor, teu Deus, eu te
seguro pela mão e te digo: Nada
temas, eu venho em teu auxílio.
Isaías 41:13

Agradecimentos

À minha família, pelo apoio, conselhos, orações, pelas gostosas prosas aos sábados na casa da Vó, por me dar um teto quando longe de casa, por aquela ajuda financeira que sempre dava uma desafogada, por sempre estarem torcendo pelo meu sucesso.

“A casa é feita de pedra e a família é feita de amor”.

À minha noiva... esposa Suelen (está quase), pela paciência, companheirismo, por ser uma grande incentivadora do meu trabalho e pela ajuda crucial nas minhas tabelas...você é muito boa nisso! Muito obrigado por estar sempre ao meu lado, me fazendo mais forte nas batalhas e mais feliz nas vitórias. Te amo.

À Minha orientadora e amiga Elizabeth Romagosa, que me acolheu e confiou no meu trabalho. Por ser uma pesquisadora dedicada e íntegra, nas coletas sempre agarrada ao trabalho, faça sol ou chuva, calor ou frio, um exemplo a ser seguido. Sempre disposta a uma boa prosa. Obrigado pelos ensinamentos Beth, minha mãe acadêmica.

Ao meu orientador e amigo Giovani S. Gonçalves, uma grande pessoa, pesquisador competente, sabe muito. Agradeço por todos os ensinamentos e incentivos, por indicar-me um norte no caminho das pedras da vida profissional, por não me deixar desistir! Obrigado por, juntamente a Cíntia, sua esposa, sempre terem me dado “janta” e pouso, não foram poucas vezes. Sempre os tenho em minhas orações.

À “grande equipe”: Guilherme S. Telli, Raissa B. Cavalcanti, Mariana M. Evangelista, Mayara Moura, Thaís Ferreira e Ednara Araújo, companheiros do dia a dia nos experimentos, sempre dispostos a ajudar, não importava quando e como. Ímpares em suas qualidades. Torço para encontrar mais pessoas assim no meu caminho.

À Apta de Pirassununga, seus funcionários e pesquisadores, por possibilitarem e ajudarem na execução do meu projeto.

Aos colegas Leonardo Tachibana, Daniele de Carla Dias, Eduardo A. Sanches, Renan Okawara, Daniela Damaceno e Mariene Natori pela fundamental ajuda durante as coletas.

Ao Instituto de Pesca de São José do Rio Preto, seus funcionários e pesquisadores, pela grande ajuda no processamento das rações, não foram poucos quilos.

À Piscicultura Peixe Vivo e todos os seus funcionários pela ajuda na execução do projeto e aos proprietários Assis Castelan, Assis Henrique Castelan e Emerson Esteves por cederem toda a infraestrutura necessária para a realização do experimento e por acreditarem na pesquisa como importante ferramenta para o desenvolvimento da aquicultura.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp, seu programa de pós graduação sob coordenação do Dr. Sérgio R. Batlouni e vice Dr. Rafael H. Nóbrega, e seus funcionários Veralice Cappatto e David Oliveira Lorente, pessoas sempre prontas a nos socorrer e nos auxiliar nas dificuldades burocráticas da vida.

Aos colegas do Caunesp, toda a turma, que frequentaram junto comigo as disciplinas, fazendo com que as semanas de estudos fossem mais agradáveis. Em especial ao Matheus Medeiros e Daniel Cala (Colômbia), que me acolheram em suas casas.

Por último agradeço a Deus por colocar em meu caminho todas as pessoas acima mencionadas e com isso possibilitar a realização de um sonho.

“Não necessito de tudo, nem quero tudo, quero apenas o que preciso ai sim terei tudo.”

(Waldir Peres)

Apoio financeiro

CAPES-DS Bolsa de doutorado

Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo – Auxílio à Pesquisa-Regular:
Processo 2013/24474-1

Dietas práticas para reprodutores de tilápia-do-nilo

1. Resumo

Um dos desafios da cadeia produtiva da tilápia é determinar qual a dieta mais adequada de modo a garantir a melhor eficiência reprodutiva. Os experimentos avaliaram o desempenho reprodutivo de tilápias-do-nilo, alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta (PB) em duas etapas (I e II): **I-Unidade experimental**, utilizando quatro dietas (32, 38, 44 e 50% de PB). Observou-se resultados de motilidade (MOT), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média do deslocamento (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) significativos no sêmen dos machos até uma inclusão de 44% de PB, porém, não foram verificados benefícios relevantes nas fêmeas, sendo que, para todos os tratamentos apresentaram os parâmetros reprodutivos: volume de ovos, número de ovos e fecundidade absoluta sem diferença significativa ($p>0,05$). **II-Piscicultura comercial**, utilizando quatro dietas experimentais (32B, 38, 44 e 50% PB) e duas comerciais (32A e 36% PB). Não foram encontrados resultados significativos no desempenho reprodutivo das fêmeas (volume de ovos, fecundidade absoluta e número de ovos produzidos), no entanto, observando os parâmetros avaliados nos machos (MOT, VCL, VAP e VSL) o crescimento e a sobrevivência significativa ($p<0,05$) das larvas, propõe-se a utilização de dietas contendo 44% de PB em rações para matrizes de tilápia-do-nilo, a fim de se obter resultados satisfatórios na produção em escala comercial.

1.1. Palavras-chave: nutrição, desempenho reprodutivo, hematologia, sêmen, pós-larvas.

Practical diets for broodstock Nile tilapia

2. Abstract

One of the challenges of the tilapia reproductive chain is to determine the most appropriate diet in order to ensure better reproductive efficiency. The experiments evaluated the reproductive performance of Nile tilapia fed with different levels of crude protein (CP) in two stages (I and II): I-experimental unit, using four diets (32, 38, 44 and 50% CP). There was a positive response for males up to 44% CP, however, there have not been verified significant benefits in females. II-commercial fish farming, using four experimental diets (32B, 38, 44 and 50% CP) and two commercial diets (32A and 36% CP). There were no significant results on females reproductive performance, however, observing the parameters evaluated in males and the significant growth of the larvae, it is proposed the use of diets containing 44% crude protein in diets for broodstock Nile tilapia, in order to obtain satisfactory results in the production on a commercial scale.

2.2. Keywords: nutrition, reproductive performance, hematology, semen, post larvae

3. Introdução

A aquicultura é o setor de produção de alimentos que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período de 2009 a 2014 (MPA, 2014), neste segmento, a produção de tilápia, apresentou crescimento anual entre 20-25% (Ng & Romano, 2013). Em 2014 a produção movimentou aproximadamente R\$ 1 bilhão com 198,49 mil toneladas despescadas, o equivalente a 41,9% do total da piscicultura do país, sendo que do total produzido, 99% é consumido internamente (IBGE, 2014).

Neste sentido, o investimento em pesquisas direcionadas para um maior desenvolvimento da aquicultura se faz necessário, principalmente na produção de larvas e juvenis, e tendo-se em vista a alta demanda decorrente do crescimento na produção intensiva, torna-se um dos grandes desafios da cadeia produtiva da tilápia (Lupatsch et al., 2010).

Um dos principais pontos envolvidos na reprodução de peixes é relacionado à nutrição dos reprodutores, na qual as rações utilizadas desempenham função vital na oferta de nutrientes essenciais à qualidade dos gametas, ao desenvolvimento gonadal e sucesso dos ovos e larvas, especialmente no cultivo de tilápias (Siddiqui et al., 1998; Lupatsch, 2010).

Gunasekera et al. (1996) observaram que fêmeas de tilápia alimentadas com rações contendo 35% de proteína bruta (PB) e 4.810 kcal, obtiveram melhores resultados reprodutivos em comparação aos tratamentos com 10 e 20% PB e 4.570 e 4.690 kcal, respectivamente, porém somente foi observada diferença significativa para a viabilidade das larvas. Entretanto, Siddiqui et al. (1998), avaliaram o desempenho reprodutivo de tilápias-do-nilo utilizando cinco tratamentos (25, 30, 35, 40 e 45% de PB com 3.100 Kcal) e, verificaram que as rações contendo 45% de PB demonstraram valores mais elevados das taxas de fecundidade (12.665 ovos/fêmea) em relação ao tratamento com 25% de PB (9.535 ovos/fêmea), porém sem significância.

Lupatsch et al. (2010), testaram três manejos alimentares, sendo máxima ingestão de alimento (*ad libitum*), média ingestão (calculou-se metade da ingestão máxima) e restrição alimentar, com rações que continham 40% de PB e 4.500 kcal. Constataram que as fêmeas alimentadas até a saciedade apresentaram quantidade de ovos/kg de peixe maior em relação aos outros tratamentos (1,13; 0,97; 0,73, respectivamente). Analisando-se a composição bromatológica dos ovos, puderam concluir que para tilápias com peso médio de até 300g, uma dieta contendo 33% de proteína digestiva e 3.821 kcal foi suficiente para um ótimo desempenho reprodutivo.

Estudos avaliando a nutrição em reprodutores de tilápia vêm sendo realizados, porém, os resultados são questionáveis e contraditórios por serem conduzidos em

ambientes fechados e climatizados, realizados em um curto espaço de tempo, não podendo ser aplicados diretamente no campo. São baseados essencialmente em dietas utilizando albumina ou caseína, deficiente em aminoácidos essenciais, não sendo uma dieta prática possível de ser aplicada nas indústrias de ração (El-Sayed, 2004).

Recentemente uma revisão realizada por Ng e Romano (2013) mostrou que a maioria dos experimentos recomenda a utilização de 30-40% PB para reprodutores de tilápia-do-nilo. Entretanto, para as indústrias de rações, assim como para os produtores, estes valores são extremamente amplos. Esta diferença de 10% de PB pode equivaler a significativo aumento ou decréscimo no custo final de produção por tonelada de ração. Obviamente não se torna rentável o investimento, sendo que as próprias empresas não têm onde se apoiar cientificamente para justificar estes valores, ficando impraticável a manutenção de uma linha de rações para reprodutores (Grupo Âmbar Amaral - Raguife Rações[®], Santa Fé do Sul - SP). Esta falta de informação leva os produtores a utilizar uma ração comercial de engorda, com 32% de PB para alimentar seus reprodutores, deixando de utilizar uma ração específica que possa promover o máximo desempenho reprodutivo.

4. Objetivos

4.1. Objetivo geral:

- Avaliar se a utilização de níveis elevados de proteína bruta em rações para reprodutores de tilápias-do-nilo proporcionam uma resposta positiva nos índices reprodutivos e nos resultados econômicos, levando-se em conta uma primeira etapa (unidade experimental) com maior controle dos resultados individuais (microchipagem das matrizes), e descanso periódico dos animais, e uma segunda etapa (piscicultura comercial) com avaliações de produção massal por tratamento e sem descansos periódicos, seguindo os protocolos adotados pelas próprias pisciculturas comerciais.

4.2. Objetivos específicos

Etapa I: Unidade de pesquisa APTA Centro Leste – Pirassununga - SP

- a) Determinar a influência dos níveis de proteína (32, 38, 44 e 50% de PB) nos parâmetros reprodutivos de tilápias-do-nilo.

- b) Analisar os valores hematológicos dos reprodutores no tempo zero (antes da oferta das rações experimentais) e no final do experimento.

Etapa II: Piscicultura comercial (Piscicultura Peixe Vivo[®] - Santa Fé do Sul – SP)

- a) Determinar a influência dos níveis de proteína utilizando quatro dietas experimentais (32B, 38, 44 e 50% de PB) e duas comerciais (32A e 36% PB) nos parâmetros reprodutivos de tilápias-do-nilo.
- b) Analisar os valores hematológicos dos reprodutores no tempo zero (antes da oferta das rações experimentais) e no final do experimento.
- c) Avaliar a viabilidade econômica da utilização das diferentes dietas experimentais aplicadas a um modelo de piscicultura comercial.

5. Referências

- EL-SAYED, A.M. Protein nutrition of farmed Tilapia: searching for unconventional sources. Pages 364–378 in R. Bolivar, G. Mair, K. Fitzsimmons, editors. New dimensions in farmed tilapia: proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia Aquaculture 2004, Manila, Philippines. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana, USA, 2004.
- GUNASEKERA R.M., SHIM K.F. & LAM T.J. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 146, 245–259, 1996.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. “Produção da Pecuária Municipal, 2014”. Rio de Janeiro/RJ, v. 42, 39p. 2014.
- LUPATSCH, I.; Deshev R.; Magen, I. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus* *Aquaculture* 41, 763-769, 2010.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - Boletim estatístico da pesca e aquicultura – Brasil, 2014.
- NG, W.K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Review in Aquaculture* 4, 1-35, 2013.
- SIDDIQUI, A.Q.; AL-HAFEDH, Y.S.; ALI, S.A. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) *Aquaculture Research* 29, 349 – 358, 1998.

Estes experimentos realizados nas duas etapas originaram dois artigos científicos que serão submetidos a uma revista internacional, AQUACULTURE, Elsevier®.

Artigo 1: “Desempenho reprodutivo de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína”

Artigo 2: “Reprodutores de tilápia-do-nilo de uma piscicultura comercial alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína”

Desempenho reprodutivo de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína.

Reproductive performance of Nile tilapia fed diet with different protein levels

1. Resumo

Este experimento teve por objetivo avaliar o desempenho reprodutivo de tilápia-do-nilo, alimentada com rações contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB), 32, 38, 44 e 50%. Ao final do experimento 80,56% das fêmeas alimentadas com o maior nível de PB na dieta desovaram, em comparação a 69,44% das fêmeas alimentadas com o menor nível. O volume de ovos produzidos por tratamento também foi maior à medida que se aumentou o nível de PB nas rações, porém, ambos os resultados não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$). Os parâmetros espermáticos aumentaram gradativamente com o nível de PB nas rações até atingir 44%, ocorrendo um decréscimo no tratamento com 50% de PB. Os valores dos eritrócitos e hematócritos não apresentaram diferença significativa, assim como o volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular médio (VHCM), o número de leucócitos e trombócitos foi similar entre os tratamentos não apresentando diferença significativa ($p>0,05$). Conclui-se que, a utilização de PB em dietas para reprodutores de tilápia-do-nilo, variedade GIFT, melhoram o desempenho reprodutivo das matrizes, levando-se em conta a resposta positiva observada nos machos até inclusão de 44% de PB. Não foram verificados benefícios relevantes nas fêmeas, apesar dos valores obtidos nas coletas mostrarem parâmetros positivos à medida que se aumentou a concentração de PB nas dietas. Todavia, avaliando-se de maneira geral, a utilização de níveis de PB elevados melhora o desempenho reprodutivo da espécie.

1.1. Palavras-chave: nutrição, reprodução, hematologia, sêmen, pós-larvas.

2. Abstract

This experiment aimed to evaluate the reproductive performance of Nile tilapia fed with different levels of crude protein (CP) 32, 38, 44 and 50%. At the end of the experiment 80.56% of females fed with the highest level of CP in the diet spawned, compared to 69.44% of females fed with the lowest level, the volume of eggs produced per treatment was also higher as it increased the crude protein level in feed, but both results showed no significant difference ($p > 0.05$). Sperm parameters gradually increased to the level of CP up to 44%, with a decrease in treatment with 50%. The values of erythrocytes and hematocrit did not differ significantly, and the mean corpuscular volume (MCV), the mean corpuscular hemoglobin concentration (VHCM), leukocyte counts were similar between treatments and the number of thrombocytes, although in most concentration in the treatment with 44% CP, showed no significant difference ($p > 0.05$). In conclusion, the use of CP in diets for breeding of Nile tilapia, variety GIFT, improve the reproductive performance of arrays, taking into account the positive response observed in males up to an addition of 44% CP, however, hasn't been verified significant benefits in females, although the values obtained in the samples show positive parameters as they increased the concentration of CP in diets. However, in general, the use of high CP levels improves the reproductive performance of the species.

2.2. Keywords: Nutrition, reproduction, hematology, semen, fry.

3. Introdução

Entre perspectivas de crescimento da população e necessidades de aumento da produção de alimento sugerida pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura - FAO (2009), o setor de produção animal é hoje um dos que mais cresce no mundo (Oliveira et al., 2014).

Neste cenário destaca-se a aquicultura, por fornecer grande variedade de produtos e subprodutos, tendo a tilápia como destaque entre as espécies de peixes produzidas globalmente (Ng & Romano, 2013; Oliveira et al., 2014). Isto tem gerado maior demanda por larvas e juvenis (Ng & Wang, 2011), que atualmente um dos grandes desafios da cadeia produtiva (El Sayed & Kawanna, 2008; Lupatsch et al., 2010).

De que maneira pode-se garantir a melhor eficiência reprodutiva? Segundo El Sayed & Kawanna (2008) a formulação de dietas apropriadas para reprodutores requer rações que ofereçam nutrientes essenciais à qualidade dos gametas, como também, ao desenvolvimento gonadal e sucesso dos ovos e larvas (Siddiqui et al., 1997 e 1998; Lupatsch, 2010). Pesquisas realizadas por Gunasekera et al. (1996) constataram que fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações contendo 35% de PB e 4.810 kcal, obtiveram resultado satisfatório em relação aos tratamentos com 10 e 20% PB e 4.570 e 4.690 kcal, respectivamente, porém, observaram diferenças significativas somente em relação a viabilidade das larvas. Siddiqui et al. (1998) avaliaram o desempenho reprodutivo da mesma espécie utilizando cinco tratamentos (25, 30, 35, 40 e 45% de PB com 3.100 kcal) e, verificaram que as rações contendo 45% de PB mostraram valores superiores para taxas de fecundidade (12.665 ovos/fêmea) em relação ao tratamento com 25% de PB (9.535 ovos/fêmea), porém, semelhantes aos outros tratamentos.

Aspectos relacionados à nutrição dos machos ainda precisam ser estudados, tais como, as características seminais e espermáticas, que variam de acordo com o estado nutricional do peixe (Izquierdo et al., 2001) e têm papel fundamental nos processos reprodutivos (Billard & Cosson, 1992; Rurangwa et al. 1994). Parâmetros seminais e espermáticos de tilápias foram influenciados pela inclusão de vitamina C (Matavelli et al., 2010), energia digestível (Bombardelli et al., 2010), óleos (Navarro et al., 2014) e proteína bruta (Oliveira et al., 2014). Não obstante, ainda não se tem resultados conclusivos sobre a dieta ideal para os parâmetros reprodutivos de machos de tilápia-do-nilo.

Alterações no sangue dos animais submetidos a diferentes níveis de proteínas são esperados, já que estas substâncias fazem parte da composição corporal dos animais e desempenham papel fundamental na homeostasia. Segundo Tavares & Moraes (2004) essas

substâncias compõe grande parte dos componentes do sangue, como a hemoglobina, cuja função é a de transportar oxigênio e a albumina mantendo a pressão osmótica, transporte de hormônios tireoidianos, hormônios lipossolúveis e a bilirrubina não-conjugada, conservando a união competitiva com íons de cálcio e controle do pH.

Uma revisão realizada por Ng & Romano (2013) demonstrou que a maioria dos experimentos recomenda a utilização de 30 - 40% PB para reprodutores de tilápia. A ausência de informações precisas ou indicações informais, trazidas pelos próprios produtores e fabricantes, induzem a utilização de rações comerciais de engorda (crescimento e terminação) utilizadas para peixes a partir de 150 g até a despesca, com 32% de PB para alimentar os reprodutores, deixando de utilizar uma ração que possa promover o máximo desempenho reprodutivo.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar os aspectos reprodutivos e sanguíneos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis proteicos.

4. Material e métodos

4.1. Localização e período

O experimento foi realizado nas dependências da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, APTA/S.A.A., município de Pirassununga, São Paulo/Brasil, localizado na região centro-leste do estado de São Paulo (latitude 21°59'46" sul e longitude 47°25'33" oeste), no período de dezembro de 2013 a junho de 2014.

4.2. Análise da água

Os valores de temperatura da água (°C), oxigênio dissolvido (mg/L) e pH foram registrados com auxílio de potenciômetros digitais, enquanto para determinar a transparência (m) da água utilizou-se o disco de Secchi. Diariamente todas as variáveis foram registradas.

4.3. Desenho experimental

Foram selecionadas e sexadas 192 matrizes de tilápia-do-nilo, variedade GIFT, sendo 144 fêmeas ($280,30 \pm 69,60$ g) e 48 machos ($372,5 \pm 110,68$ g), sendo estes colocados para início de coorte e cópula nos hapas pela primeira vez. Os animais foram identificados eletronicamente utilizando microchips, individualmente, pesados (g) e medidos (cm), antes de serem acondicionados em "hapas" (malha 1,0 mm, medindo 3,0 x 1,5 x 1,5 m), na proporção de 3 fêmeas/1 macho, totalizando 12 peixes por hapa (36 fêmeas e 12 machos por tratamento), instalados em dois tanques de alvenaria e fundo de terra (200 m²). A fim de se obter uma melhor

oxigenação no interior dos hapas e evitar a colmatção das telas, um sistema de bombas foi instalado de maneira a realizar uma aspersão com a própria água do tanque sobre os mesmos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado composto por quatro tratamentos e quatro repetições.

4.4. Dietas experimentais

Quatro dietas experimentais contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) (32; 38; 44 e 50% PB) e 3,500 kcal de energia (Tabela 1) foram formuladas (programa Optimal FORMULA 2000) e processadas na fábrica de rações experimentais localizada no Instituto de Pesca, APTA-UPD São José do Rio Preto, São Paulo/Brasil.

Tabela 1. Ingredientes das rações experimentais ofertadas aos reprodutores de tilápia-donilo durante a realização do experimento.

Ingrediente (%)	Dietas (% PB)			
	32	38	44	50
Farinha de penas	1,00	1,50	2,50	2,80
Farinha de vísceras	11,00	12,00	15,00	16,50
SPC ¹	20,00	24,00	29,00	32,50
Protenose ²	2,00	3,00	4,50	5,52
Farelo de Trigo	8,77	8,20	4,58	3,20
Farinha de trigo	0,00	1,00	4,00	5,00
Macrogard ³	0,03	0,03	0,03	0,03
Active MOS ⁴	0,50	0,50	0,50	0,50
Quirera de arroz	34,75	27,06	18,45	11,50
Farinha de Carne e Ossos	2,06	4,00	0,68	0,00
Farinha de peixe	10,00	12,00	13,50	15,00
Farinha Sangue	1,50	2,00	3,50	4,00
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	1,50	0,89	0,82	0,57
Óleo de soja	4,00	1,00	0,47	0,00
Vitamina C 35%	0,48	0,17	0,17	0,17
Cloreto de Colina 70%	0,20	0,20	0,20	0,20
L-Lisina	0,10	0,20	0,20	0,19
L-Treonina	0,12	0,20	0,06	0,23
Taurina	0,10	0,10	0,10	0,10
DL-Metionina	0,24	0,40	0,19	0,44
Oxynyl Dry ⁵	0,10	0,10	0,10	0,10
Adsorvente de micotoxina	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico	0,30	0,20	0,20	0,20
Orego-Stim ⁶	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix ⁷	0,70	0,70	0,70	0,70
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

¹(Concentrado Protéico de Soja - 60% PB), ²Protenose (Glúten de Milho - 60% PB), ³ β - Glucano (Biorigin[®]), ⁴Mananoligossacarídeo (Biorigin[®]), ⁵Antioxidante, ⁶Óleos essenciais (Meriden Animal Health[®]), ⁷Suplemento Vitamínico e Mineral (In Vivo[®]) – níveis de garantia por kg do produto: Vit. A=12.000,00 UI/kg; Vit. D3= 3.000.000 UI/kg; Vit. E = 150,0 mg; Vit. K3 = 15,00 mg; Vit. B1 = 20,00 mg; Vit. B2 = 20,00 mg; Vit. B6 = 17,50 mg; Vit. B12 = 40,00 mcg; Vit. C = 300.000 mg; Ácido Nicotínico = 100,00 mg; Ácido Pantotênico = 50,00 mg; Biotina = 1,00 mg; Ácido Fólico = 6,00 mg; Antioxidante = 25,00 mg; Sulfato de Cobre = 17,50 mg; Sulfato de Ferro = 100,00 mg; Sulfato de Manganês = 50,00 mg; Sulfato de Zinco = 120,00 mg; Iodeto de Cálcio = 0,80 mg; Sulfato de Sódio = 0,50 mg; Sulfato de Cobalto = 0,40 mg; Inositol = 125,00 mg; Colina = 500,00.

As matérias primas foram pesadas, homogeneizadas e moídas a granulometria de 0,7 mm, em moinho de martelo Vieira[®], logo em seguida, novamente

homogeneizadas e levadas à extrusão em máquina FERRAZ[®] (E 62), e secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 24 h.

As rações foram encaminhadas à CBO-Análises Laboratoriais, Campinas, SP/Brasil, para análise da concentração de proteína bruta, energia, matéria mineral, extrato etéreo e composição aminoacídica (Tabela 2), seguindo a metodologia de El Sayed et al. (2003) de acordo a AOAC (1990).

O período de ajuste dos reprodutores à ração foi de 30 dias anteriores ao início das coletas (dezembro/2013), calculando-se a oferta de ração em 1% do peso do peixe em dias alternados, durante todo o período experimental, similar ao sugerido por Siddiqui et al. (1997) e Lupatsch et al. (2010).

Tabela 2. Composição centesimal das rações experimentais ofertada aos reprodutores de tilápia-do-nylo durante a realização do experimento.

Composição	Diets (% PB)			
	32	38	44	50
Umidade %	5,65	7,15	6,11	5,26
Proteína Bruta %	32,21	38,34	44,61	50,78
Extrato etéreo %	7,78	4,00	5,31	4,90
Fibra Bruta %	2,40	2,57	2,46	2,49
Cálcio %	2,69	3,13	3,64	3,10
Fósforo %	1,50	1,63	1,96	1,63
Arginina %	2,10	2,44	2,77	3,00
Lisina %*	2,00	2,51	2,85	3,20
Metionina+ Cisteína %*	1,08	1,26	1,26	1,59
Treonina %*	1,44	1,82	2,09	2,36
Triptofano %*	0,34	0,40	0,48	0,52
Metionina %*	0,86	1,13	1,03	1,41
Energia Digestível ¹ *	3550,61	3454,79	3523,41	3546,36
Proteína Digestível %*	27,03	32,00	37,08	40,93
Amido %*	30,00	25,27	20,50	16,00

*Valor calculado, ¹kcal

4.5. Coleta de ovos

A reprodução ocorreu de forma espontânea, à medida que foram constituídos casais dentro dos hapas, durante sete dias. Após este período machos e fêmeas foram separados e descansaram por 15 dias. As cinco coletas de ovos foram realizadas verificando-se todas as fêmeas individualmente, com auxílio de puçás e leitores de microchip observando-se a presença de ovos na cavidade orofaríngea, segundo a metodologia descrita por Lupatsch et al. (2010), estes foram retirados com auxílio de pisseta e água do próprio viveiro. Os ovos foram levados ao laboratório para registro de peso (g) e volume (mL) produzidos por cada matriz, retiradas amostras para contagem e medição do diâmetro (µm). O restante dos ovos foi mantido, separado por tratamento, em incubadoras (400 mL), com recirculação de água e controle das

variáveis físicas e químicas, permanecendo nestas até o nascimento das larvas e total absorção do saco vitelínico.

Para a avaliação do diâmetro médio dos ovos utilizou-se amostras de 50 ovócitos por fêmea/tratamento. Primeiramente as amostras foram registradas em estereomicroscópio acoplado à câmera digital (Bel – 150 X). O diâmetro foi calculado pela média aritmética entre o maior eixo horizontal e vertical com auxílio do software livre.

4.6. Coleta de sêmen

Para as coletas de sêmen foram selecionados cinco peixes em dois momentos por tratamento: zero (Mz - jan/14) e final (Mf - mai/14). O sêmen dos momentos, Mz e Mf, foi coletado diretamente dos testículos, após serem anestesiados e eutanasiados, evitando-se a contaminação com urina e sangue.

A sobrevivência espermática foi estimada por meio da contagem de 600 células fixadas por indivíduo e coradas com eosina-nigrosina conforme Kavamoto & Fogli da Silveira, (1986) e Sanches et al. (2009). O percentual de espermatozoides normais foi avaliado a partir da fixação das células espermáticas em formol salino tamponado e coradas com rosa de bengala (Streit Jr. et al., 2004), com posterior contagem e classificação de 600 espermatozoides e seguindo as recomendações de Caneppele et al. (2013).

Os parâmetros de motilidade espermática foram avaliados pelo software livre CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*), empregando-se o procedimento adotado por Wilson-Leedy & Ingermann (2006; 2007) para análises a partir de *softwares* de código aberto ImageJ/Plugin CASA, capturados os vídeos a 101fps (640x480 pixels) e processados segundo Sanches et al. (2010; 2013), sendo as configurações utilizadas foram adaptadas para tilápia-do-nilo. Os parâmetros espermáticos obtidos a partir de três réplicas por macho foram: taxas de motilidade (MOT), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média do deslocamento (VAP) e velocidade em linha reta (VSL).

4.7. Coleta e análises de sangue

As análises hematológicas foram realizadas no final do experimento (Mf) seguindo-se o protocolo de Ranzani-Paiva et al. (2013) para determinação do número total de células. A contagem diferencial e total dos leucócitos e contagem total de trombócitos foi

realizada segundo Rosenfeld (1947). O hematócrito foi mensurado pelo método do micro hematócrito de acordo com Goldenfarb et al. (1971) e a taxa de hemoglobina, pelo método da cianometahemoglobina. Com os valores das taxas de hemoglobina (Hb), do hematócrito (Ht) e do número de eritrócitos (Er) calcularam-se os índices hematimétricos absolutos: VCM (volume corpuscular médio, $Ht \times 10/Er$) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média, $Hb \times 100/Ht = \%$).

4.8. Análise estatística

Para as análises estatísticas dos parâmetros morfométricos, reprodutivos e sanguíneos avaliados foi utilizado o programa Statistica 7.0 (Statsoft 2005), sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando observadas diferenças ($P < 0,05$), foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível de significância. Apenas para os parâmetros espermáticos aplicou-se a análise de variância de componentes principais, considerando-se os machos como fator bloco e os diferentes níveis de proteína bruta como tratamento ao nível de 5% de significância, em caso de efeito significativo, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível de significância.

5. Resultados

5.1. Análise da água

Durante os cinco primeiros meses do experimento os valores médios de temperatura da água mantiveram-se a $28,0 \pm 1,67$ °C, oxigênio dissolvido com $5,8 \pm 0,44$ mg/L, pH em $6,70 \pm 0,42$ e transparência em $54,0 \pm 7,59$ cm. Ao final do experimento, maio/2014, os valores de temperatura da água decresceram atingindo $19,0 \pm 1,02$ °C, em decorrência das mudanças climáticas ocorridas no período. As médias dos parâmetros de oxigênio dissolvido e pH mantiveram-se constantes durante a realização do experimento.

5.2. Parâmetros morfométricos

O estudo indicou que o crescimento dos reprodutores de tilápia-do-nylo não foi afetado pelas diferentes dietas ($p > 0,05$), observando que as médias dos valores de ganho em peso (GP) e peso final (PF) foram semelhantes nos quatro tratamentos (Tabela 3), assim como, para os valores médios de comprimento final (CF).

Tabela 3. Parâmetros morfométricos e reprodutivos de fêmeas de tilápias-do-nilo, alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

(% Proteína Bruta, PB)	Dietas ¹			
	32	38	44	50
Parâmetros morfométricos				
Peso inicial fêmea (Pi, g)	284,30 ± 69,60	284,30 ± 69,60	284,30 ± 69,60	284,30 ± 69,60
Peso final fêmea (Pf, g)	535,55 ± 110,08	501,80 ± 67,18	521,83 ± 73,43	532,19 ± 108,80
Peso inicial macho (Pi, g)	372,5 ± 110,68	372,5 ± 110,68	372,5 ± 110,68	372,5 ± 110,68
Peso final macho (Pf, g)	583,58 ± 134,42	658,68 ± 99,87	568,28 ± 91,74	650,96 ± 80,81
Parâmetros reprodutivos				
Volume total ovos (mL) ²	606,00	615,00	678,00	723,00
Número total dos ovos ²	91.021,00	94.435,00	86.802,00	109.964,00
Peso total dos ovos (g) ²	459,83	478,59	443,62	562,22
Diâmetro dos ovos (mm)	2,03 ± 0,23	2,02 ± 0,19	2,06 ± 0,21	2,03 ± 0,21
Fecundidade absoluta	2.275 ± 878	2.208 ± 1009	2.411 ± 1097	2.199 ± 1038
% de fêmeas que desovaram	69,44	77,78	75,00	80,56
% de fêmeas não desovaram	30,56	22,22	25,00	19,44
Desovas por fêmea/trat.	1,05	1,25	1,00	1,38

¹Dietas (% PB); ² Valores obtidos durante todo o período experimental.* Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de comparação múltipla a posteriori, media dos grupos, p<0,05)

5.3. Parâmetros reprodutivos

Fêmeas

Ao final de 25 semanas de experimento, fêmeas de tilápia-do-nilo em primeiro ciclo de reprodução, alimentadas com diferentes níveis de PB apresentaram diferenças para os valores de produção de ovos na primeira coleta (p<0,05), porém, quando comparadas às cinco coletas entre si, não foram encontradas tais diferenças (Tabela 3). O mesmo ocorreu em relação ao total de ovos produzidos, que não variaram em decorrência das dietas ofertadas.

O nível de PB da dieta teve influência (p<0,05) no diâmetro dos ovos, tendo o tratamento com 38% de PB os menores valores quando comparado aos demais tratamentos, no entanto, a dieta com 44% PB apresentou valores superiores, não diferindo apenas do tratamento com 32% PB. Não houve diferenças quanto ao diâmetro e o peso dos ovos entre os tratamentos (p>0,05).

Ao analisar os valores de fecundidade absoluta observou-se que os mesmos não apresentaram diferenças significativas como também os percentuais de fêmeas que desovaram e o número de desovas por fêmea, que não sofreram alterações ao receber dietas contendo diferentes níveis de PB.

Machos

No momento final, constatou-se que os valores das taxas de motilidade foram influenciados (p<0,05) pelos níveis de proteína bruta na ração, sendo observados os maiores valores (93,9 ± 6,1%) na dieta contendo 44% PB, e 50% PB os menores valores (75,4 ± 11,0%) (Figura 1). Comportamento similar foi verificado para os parâmetros de velocidade

espermática, sendo os menores valores ($p < 0,05$) observados para dietas contendo 50% de PB. Neste nível de proteína verificou-se $128,8 \pm 12,0$; $59,8 \pm 6,4$ e $53,8 \pm 6,3$ $m s^{-1}$ para VCL, VAP e VSL respectivamente, no entanto para 44 % PB ajustaram-se os maiores valores de $153,9 \pm 16,3$; $79,3 \pm 8,5$ e $67,8 \pm 9,1$ $m s^{-1}$ para VCL, VAP e VSL, respectivamente. Comportamento semelhante foi também observado para sobrevivência espermática e número de espermatozoides normais (Figura 2), onde a dieta contendo 50% de PB apresentou os menores valores ($p < 0,05$) para ambos as variáveis.

Observando a coleta inicial, nota-se que apenas os valores do percentual de espermatozoides normais não foram influenciados ($p < 0,05$) pelas dietas experimentais (Figura 2). Os demais parâmetros foram influenciados ($p < 0,05$), com maiores valores para as taxas de motilidade e velocidades na dieta contendo 44% de PB (Figura 1). Redução dos valores ($p < 0,05$) foi verificada apenas para o parâmetro sobrevivência espermática de animais alimentados com 50% de PB (Figura 2). Os machos considerados como fator bloco influenciaram os parâmetros avaliados ($p < 0,05$).

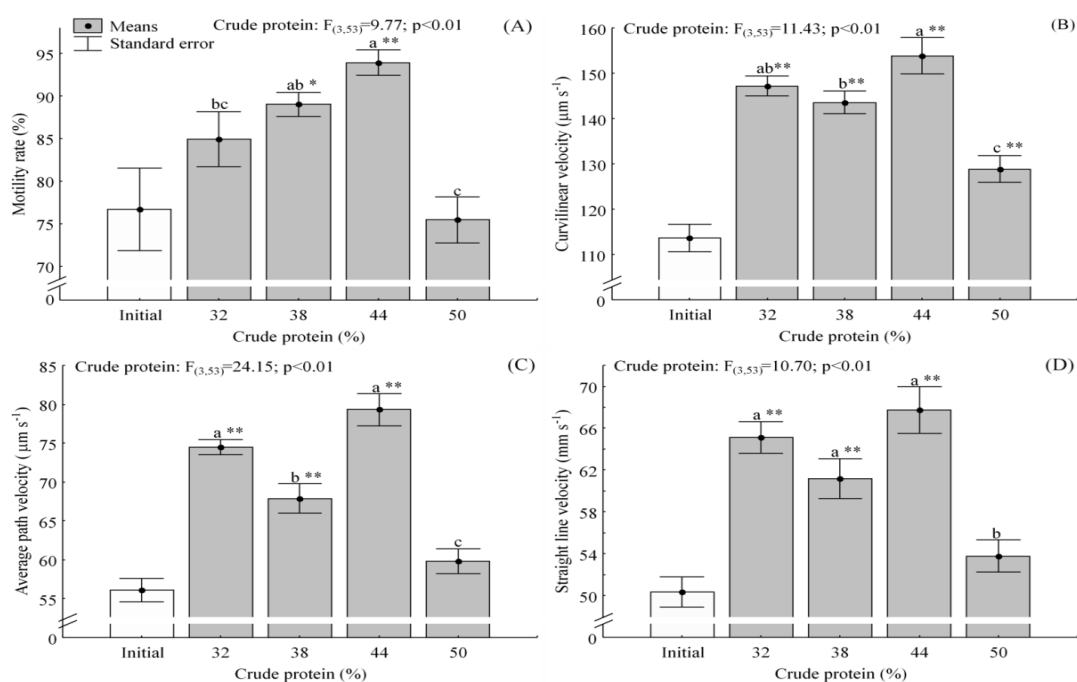


Figura 1. Parâmetros espermáticos computadorizados de tilápia-do-nilo alimentados com diferentes níveis de proteína bruta na ração. (A) Taxas de motilidade espermática - MOT. (B) Velocidade curvilínea - VCL. (C) Velocidade média de deslocamento - VAP. (D) Velocidade em linha reta - VSL. Letras diferentes nas colunas de cada gráfico representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey. Asteriscos representam diferença significativa (** $p < 0,01$; * $p < 0,05$) entre o momento inicial (Inicial) e o respectivo tratamento de acordo com o teste de comparação de médias de Dunnett.

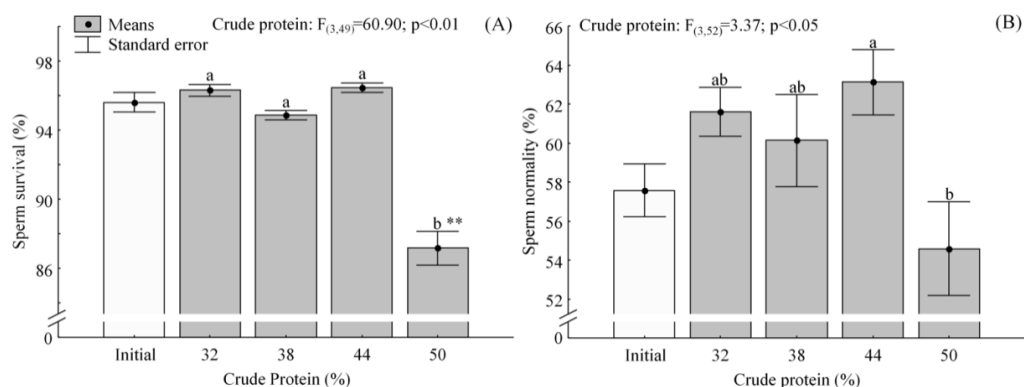


Figura 2. Taxas sobrevivência espermática (A) e Taxas de espermatozoides normais (B) de tilápias-do-nylo alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta na ração. Letras diferentes nas colunas de cada gráfico representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes níveis de proteína de acordo com o teste de Tukey. Asteriscos representam diferença significativa (** $p < 0,01$) entre o momento inicial e o respectivo tratamento de acordo com o teste de comparação de médias de Dunnett.

5.4. Parâmetros sanguíneos

A concentração de eritrócitos e hematócitos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as matrizes alimentadas com diferentes níveis de PB (Tabela 4), assim como, não foram encontradas diferenças nos valores de concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O número de leucócitos apresentou similaridade entre os tratamentos e os trombócitos, embora com valores de concentração maiores no tratamento com 44% PB, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

Tabela 4. Parâmetros hematológicos de matrizes de tilápia-do-nylo alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

Parâmetros hematológicos	Dietas (% PB)			
	32	38	44	50
Fêmeas				
Eritrócitos (cells mm ⁻³)	146,81 ± 21,10	146,56 ± 11,89	153,06 ± 25,61	143,56 ± 20,39
Hematócrito (%)	37,44 ± 3,22	36,94 ± 6,04	38,13 ± 3,25	34,31 ± 2,12
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	9,42 ± 0,92	8,60 ± 1,67	8,82 ± 0,53	8,50 ± 1,05
VCM (µm ⁻³) ¹	260,29 ± 48,35	252,72 ± 43,03	255,11 ± 46,68	243,86 ± 42,23
CHCM (g dL ⁻¹) ²	25,26 ± 2,68	23,23 ± 2,90	23,23 ± 1,65	24,76 ± 2,68
Leucócitos (cells mm ⁻³)	32431 ± 13618	37394 ± 7749	38660 ± 17629	31754 ± 8820
Trombócitos (cells mm ⁻³)	22246 ± 8006	24167 ± 8560	33509 ± 17649	16092 ± 6707
Machos				
Eritrócitos (cells mm ⁻³)	154,68 ± 18,86	156,93 ± 17,05	150,56 ± 18,08	171,50 ± 9,91
Hematócrito (%)	35,34 ± 3,95	36,09 ± 5,72	35,25 ± 3,63	32,53 ± 1,18
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	8,54 ± 0,92	8,59 ± 0,63	8,69 ± 0,62	8,45 ± 0,48
VCM (µm ⁻³)	229,64 ± 20,72	234,88 ± 62,53	237,56 ± 42,08	190,20 ± 12,33
CHCM (g dL ⁻¹)	24,25 ± 2,18	24,13 ± 2,63	24,86 ± 2,90	25,98 ± 1,27
Leucócitos (cells mm ⁻³)	20162 ± 6915	23796 ± 6175	12206 ± 2882	27579 ± 13705
Trombócitos (cells mm ⁻³)	21112 ± 15964	33606 ± 15325	30679 ± 10137	34594 ± 25249

¹Volume corpuscular médio (Htx10/Er)=VCM ; ²concentração de hemoglobina corpuscular média (Hbx100/Ht = %)=CHCM.

Na Tabela 5 encontram-se os números absolutos de leucócitos de tilápia-do-nylo. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os parâmetros dos tratamentos e entre os sexos. Os linfócitos foram às células mais frequentes nas fêmeas e os neutrófilos e monócitos nos machos.

Tabela 5. Contagem total de linfócitos, neutrófilos e monócitos em reprodutores de tilápia-do-nilo alimentados com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

Contagem diferencial: fêmeas			
Tratamento (%PB)	linfócito	neutrófilo	monócito
32	25848 ± 19628	1792 ± 1479	736 ± 803
38	28643 ± 13894	3079 ± 2330	996 ± 830
44	25589 ± 25909	2336 ± 2080	1069 ± 990
50	24517 ± 13672	2594 ± 1508	672 ± 837
Contagem diferencial: machos			
Tratamento (%PB)	linfócito	neutrófilo	monócito
32	14821 ± 5267	4299 ± 2524	1041 ± 584
38	17352 ± 6683	4960 ± 4285	1484 ± 991
44	7561 ± 2963	3593 ± 1835	1051 ± 692
50	23058 ± 12989	8588 ± 16400	1889 ± 2902

6. Discussão

Aliada a nutrição, sabe-se que a reprodução é o processo biológico mais importante dos organismos, uma vez que dela depende a sobrevivência e a perpetuação das espécies, desta forma, a possibilidade de controlar o ciclo reprodutivo de organismos confinados é um dos fatores de maior importância para assegurar o êxito da piscicultura (Romagosa et al., 2013).

Lupatsch et al. (2010) demonstraram que durante o período reprodutivo dos peixes, a maioria dos nutrientes consumidos pelos reprodutores é direcionada para o desenvolvimento gonadal e desempenho de ovos e larvas, corte, construção de ninhos, proteção da prole, defesa de territórios, entre outras. É válido lembrar que a tilápia-do-nilo incuba os ovos na boca e, desta forma, não se alimenta durante este período (El Sayed & Kawanna, 2008; Ng & Wang, 2011). Logo, neste estudo os baixos valores de ganho de peso (GP) das matrizes de tilápia-do-nilo, durante as 25 semanas de experimento, corroborando as informações acima mencionadas, como também as citadas por Lupatsch et al. (2010) e Ng & Wang (2011), que descreveram o valor de GP moderado de matrizes ao confrontar níveis de inclusão de óleo nas rações no período de reprodução.

Quanto ao desempenho reprodutivo das matrizes de tilápia observadas no presente estudo, ao avaliar o número e o volume de ovos produzidos durante o período experimental, estes não demonstraram diferenças significativas ($p > 0,05$), similar aos resultados encontrados por Gunasekera et al. (1996) e Siddiqui et al. (1998). Entretanto, El Sayed & Kawanna (2008) obtiveram melhor desempenho aumentando a concentração de PB nas rações de seus reprodutores (30 - 40%).

Existem investigações relevantes a respeito do aumento da concentração de proteína e energia nas rações para reprodutores de tilápia, porém, poucos concisos e de certa forma

inconsistentes, em função de aspectos práticos envolvidos no manejo reprodutivo como, tamanho dos peixes, densidade de estocagem, histórico de desovas e duração dos estudos, acrescenta-se a estes exemplos a qualidade na formulação das rações e a utilização de matérias primas corretas (El Sayed & Kawanna, 2008). Diante do exposto, até que se determine a dieta ideal para reprodutores de tilápia, grande parte das pisciculturas de reprodução são obrigadas a utilizar rações formuladas para outros fins, como engorda ou terminação, por exemplo. Todavia, é importante compreender a diferença existente na nutrição de matrizes de tilápia em relação a outros estágios do ciclo de vida, sendo que podem ocorrer implicações na qualidade da prole (Ng & Romano, 2013).

Esta dificuldade em determinar um nível ideal de PB em rações para as matrizes de tilápia tem impacto direto nas indústrias de rações, assim como, nos produtores. Estes valores são extremamente amplos, e uma diferença de 10% de PB pode significar aumento ou decréscimo no custo final de produção por tonelada de ração. Obviamente não se torna rentável o investimento, sendo que as próprias empresas não têm onde se apoiar cientificamente para justificar estes valores, ficando impraticável a manutenção de uma linha de rações para reprodutores (Grupo Âmbar Amaral, Raguife Rações® - Santa Fé do Sul-SP).

Neste estudo, verificou-se diâmetros dos ovos semelhantes entre os tratamentos ($p > 0,05$) como os valores descritos por Gunasekera et al. (1996) que também não encontraram diferenças significativas quando utilizaram níveis de PB entre 20 – 35%. Contudo, Oliveira et al. (2014), determinaram por meio de análises de LRP (Linear Response Plateau), que fêmeas de tilápias, alimentadas com rações contendo 38% de PB obtiveram ovos maiores (2,7 mm) em relação aos outros tratamentos. Coward & Bromage (2000) em uma revisão sobre a fisiologia reprodutiva de tilápia, sugeriram que tanto a oferta de alimento, quanto a qualidade das rações podem influenciar o diâmetro dos ovos, porém, ressaltam que poucos estudos envolvendo esta questão estão disponíveis, advertindo que existem, outros fatores inter-relacionados (tamanho e idade das matrizes) envolvidos na determinação destes valores. Ou seja, existe uma lacuna a ser preenchida, de modo a definir quais os principais fatores (bióticos ou abióticos) que levam a produção de ovos maiores ou menores.

A fecundidade, é outro parâmetro importante para determinar o desempenho reprodutivo dos peixes, sabe-se que pode ser afetada pelas deficiências nutricionais das dietas em reprodutores (Izquierdo et al., 2001; Khan et al., 2005). Os valores de fecundidade absoluta e o número de fêmeas que desovaram não sofreu influência dos diferentes níveis de inclusão de PB no presente trabalho.

Santiago et al. (1985) demonstraram que a variação dos níveis de proteína (20 – 50%), não proporcionou mudanças significativas, o que corrobora com os estudos realizados por Gunasekera et al. (1996) que notaram melhora nos índices de fecundidade absoluta em fêmeas alimentadas com níveis elevados de PB, 20 – 35% PB, em relação ao tratamento contendo 10% de PB. Todavia, Oliveira et al. (2014) indicaram por meio das análises de LRP, um ponto máximo de inclusão de PB (38%) sendo que, os valores de fecundidade absoluta foram superiores (3.757) quando comparados aos tratamentos contendo 32, 34 e 36 % de PB os quais apresentaram valores de 2.860, 3.285 e 3.418 de ovos, respectivamente, exceto quando utilizou-se 40% PB (3.753) porém, não encontrou diferença significativa.

As fêmeas apresentam baixas taxas de fecundidade e uma desova assincrônica, o que continua sendo uma das restrições mais significativas para a produção de larvas (Tsadik e Bart, 2007), entretanto, tendem a desovar mesmo com limitada oferta de alimento ou nutrientes, utilizando os recursos do próprio corpo, canalizando energia e proteína para as gônadas, a fim de garantir a qualidade dos ovos (Lupatsch et al., 2010). Contudo, após um longo período os valores da fecundidade absoluta e os intervalos de desova reprodutivos tendem a diminuir. Utilizando-se estas informações a fim de interpretar os resultados do presente estudo, supõe-se que, algo semelhante pode ter ocorrido com as fêmeas, justificando-se a simetria entre os tratamentos ($p > 0,05$). Destaca-se que, o manejo reprodutivo proposto pelo trabalho foi: Após cada semana de coleta, machos e fêmeas permanecessem separados e descansassem por 15 dias, tendo este tempo para se recuperar, justificando-se os valores próximos nas médias de GP final entre os tratamentos.

Para os machos, verificaram-se menores valores das taxas de motilidade espermática e velocidades no tratamento contendo 50% de PB, indicando que elevados níveis proteicos podem causar prejuízos no desempenho reprodutivo. Não obstante, a variação dos níveis de proteína bruta na ração entre 32 a 44% parece não ser um fator limitante para machos de tilápia-do-nylo. Resultados semelhantes foram propostos por Oliveira et al. (2015), aos quais não verificaram efeito dos níveis de 32, 34, 36, 38 e 40% de PB na ração nas taxas de motilidade e duração de motilidade espermática de sêmen fresco para a espécie. Verificou-se também que as dietas contendo 32, 38 e 44% de PB melhoraram o desempenho reprodutivo dos machos, comparado com o estado inicial do animal, com destaque para a dieta contendo 44% de PB. A melhoria das condições dos reprodutores alimentados com dietas balanceadas é corroborada por Izquierdo et al. (2001) e Ruragawa et al. (2004), aos quais discorrem sobre a importância de dietas de qualidade para os machos. Além disso, estes autores recomendam que a motilidade espermática em peixes possa ser influenciada por fatores nutricionais, tais

como, vitaminas e ácidos graxos. Apesar disso, o efeito dos níveis de PB na dieta de reprodutores praticamente não é abordado e os resultados conflitantes.

A aplicabilidade dos parâmetros hematológicos vem sendo confirmada por Ranzani-Paiva et al., (2000), Ranzani-Paiva e Silva-Souza (2004) e Araújo et al., (2011) estudando *Pseudoplatystoma fasciatum* e *Oreochromis niloticus*.

Neste estudo destaca-se que os valores da concentração de eritrócitos, hematócritos e hemoglobina foram semelhantes nos quatro tratamentos ($p>0,05$) e ficaram próximos aos valores encontrados por Oliveira et al., (2014) que avaliaram níveis de PB (32 – 40%) em rações para reprodutores de tilápia. Os resultados dos valores de VCM e CHCM também não apresentaram diferenças significativas, assim como, as concentrações de leucócitos e trombócitos.

O número de leucócitos e trombócitos estão diretamente relacionados à saúde dos peixes, sendo utilizados como indicadores sanitários, podendo-se inferir que, apesar de não existirem diferenças entre os tratamentos, ambos apresentaram números de células satisfatórias (Telli et al., 2014). Para outras espécies de peixes foram constatados resultados semelhantes (Santos et al., 2009). A diferença entre os sexos podem estar relacionadas à liberação dos hormônios que controlam a ovulação e espermição dos animais (Jawas et al., 2004). Kavadias et al. (2004) afirmam que a sexualidade parece ser o fator que mais afeta significativamente os parâmetros hematológicos dos peixes.

Conclui-se que, a utilização de PB em dietas para reprodutores de tilápia-do-nylo, variedade GIFT, resulta em benefícios ao desempenho reprodutivo das matrizes, levando-se em conta a resposta positiva observada nos machos até uma inclusão de 44% de PB.

7. Agradecimentos

Os autores são gratos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (nº 2013/24474-1) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes. Também agradecem à APTA/UPD – Pirassununga, Instituto de Pesca - São Paulo e São José do Rio Preto e seus colaboradores.

8. Referências

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1980. Official Methods of Analysis. 14th ed., Washington, EUA, 1018 pp. AOAC, Arlington.
- Araújo, D.M., Pezzato, A.C., Barros, M.M., Pezzato, L.E, Nakagome, F.K., 2011. Hematologia de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46, 294-302.
- Billard, R., Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh-water fish. Journal of Experimental Zoology 261, 122-131.
- Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A., Piana, P. A., 2010. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de macho de tilápia-do-nilo. Revista Brasileira de Zootecnia 39 (5), 941-949.
- Caneppele, D., Sanches, E.A., Romagosa, E., 2013. Sperm production of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876) and the effect of hormonal induction throughout one reproductive cycle. Journal of Applied Ichthyology 31, 54-61.
- Coward, K., Bromage, N.R., 2000. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. Fish Biology 10, 1-25.
- El-Sayed, A.-F.M., Kawannam, 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. Aquaculture 80, 179-184.
- El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R., Ezzat, A.A., 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. Aquaculture 220, 619-632.
- FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, 2009. Global Agriculture Towards 2050.
- Goldenfarb, L.M., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Am. Journal of Clinical Pathology 56 (1), 35-39.
- Gunasekera, R.M., Shim, K.F., Lam, T.J., 1996. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture 146, 245–259.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Falacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197, 25–42.

- Jawas, L.A., Al-Mukhtar, M.A., Ahmed, H.K., 2004. The relationship between haematocrit and some parameters of the Indian shad, *Tenulosa ilisha* (Family Clupeidae). *Anim. Biodiversity Conservation* 27 (2), 47-52.
- Kavadias, S., Castritsi-Catharios, J., Dessypris, A., Miliou, H., 2004. Seasonal variation in steroid hormones and blood parameters in cage-farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Journal of Applied Ichthyology* 20, 58-63.
- Khan, A. M., Jafri, A., K., Chadha, N., K., 2005. Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition* 11, 11-17.
- Kavamoto, E.T., Fogli da Silveira, W., 1986. Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em condições de campo. *Boletim do Instituto de Pesca* 13, 95-100.
- Lupatsch, I., Deshev R., Magen, I., 2010. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 41, 763-769.
- Mataveli, M., Moraes, G. V., Streit Jr. D. P., Ribeiro, R. P., 2010. Gasparino, E. Qualidade do sêmen em tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 32 (3), 345-349.
- Navarro, R.D., Navarro, F.K.S., Felizardo, V.O., Murgas, L.D.S., Pereira, M.M., 2014. Cryopreservation of semen of Thailand tilapia (*Oreochromis spp.*) fed diet with different oil sources. *Acta Scientiarum. Technology* 36 (3), 399-404.
- Ng, W.K., Romano, N., 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Review in Aquaculture* 4, 1-35.
- Ng, W.K., Wang Y., 2011. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or lin seed oil. *Aquaculture* 314, 122–131.
- Oliveira, M. M., Ferreira, M. R., Goulart, M. B., Felizardo, V. O., Murgas, L. D. S., Andrade, E. S., Allaman, I. B., Veras, G. C., Costa, D. V., Rosa, P. V., 2015. Effect Crude Protein Levels on the Broodstock Spermatic Quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *American Journal of Experimental Agriculture* 5 (3), 192-199.

- Oliveira, M.M., Ribeiro, T., Orlando, T. M., Oliveira, D.G.S., Drumond, M.M., Freitas, R. T. F., Rosa, P.V., 2014. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 150, 62-69.
- Ranzani-Paiva, M.J.T, Silva-Souza, A.T., 2004. Hematologia de peixes brasileiros. In: Ranzani-Paiva, M.J.P., Takemoto, R.M., Lizama, M. Sanidade de Organismos aquáticos. Varela, São Paulo, pp. 89-120.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Ishikawa, C.M., Das Eiras, A.A., Felizardo, N.N., 2000. Haematological analysis of 'cachara' *Pseudoplatystoma fasciatum* in captivity. Special Publication 28. In: Aqua 2000: Responsible Aquaculture in the New Millennium, Nice, France. European Aquaculture Society-EAS, 2 e 6 May. p. 590.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. 1ª ed., Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. 135 p.
- Romagosa, E., Bittencourt, F., Boscolo, W.R., 2013. Nutrição e alimentação de reprodutores. In: Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. (Eds), Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Editora Copiart Ltda, Florianópolis, Santa Catarina, pp.167-179.
- Rosenfeld, G., 1947. Corante pancrônico para hematologia e citologia clínica. Nova constituição dos componentes do May Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Memórias do Instituto Butantã* 20: 329-334.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J. P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234, 1-28.
- Sanches, E. A., Marcos, R. M., Okawara, R. Y., Caneppele, D., Bombardelli, R. A., Romagosa, E., 2013. Sperm motility parameters for *Steindachneridion parahybae* based on open-source software. *Journal of Applied Ichthyology* 29, 1114-1122.
- Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Marcos, R. M., Neumann, G., Toledo, C. P. R., Romagosa, E., 2010. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. *Aquaculture Research* 42, 153-156.
- Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Baggio, D.M., Souza, B.E. 2009. Dose inseminante para fertilização artificial do dourado. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38, 11, 2091-2098.
- Santiago C.B., Aldaba M.B., Abuan E.F., Laron M.A., 1985. The effects of artificial diets on fry production and growth of *Oreochromis niloticus* breeders. *Aquaculture* 47, 193–203.

- Santos, A.A.; Egami, M.I.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Juliano, Y., 2009. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): seasonal variation, sex and gonadal maturation. *Aquaculture* 296, 359-366.
- Siddiqui A.Q., Al-Harbi A.H., Al-Hafedh Y.S., 1997. Effects of food supply on size at first maturity, fecundity and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) *Oreochromis aureus* (Steindachner), in outdoor concrete tanks in Saudi Arabia. *Aquaculture Research* 28, 341–349.
- Siddiqui, A.Q., Al-Hafedh, Y.S., Ali, S.A., 1998. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research* 29, 349 – 358.
- Streit Jr., D.P., Moraes, G.V., Ribeiro, R.P. et al. 2004. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia. UNIPAR* 7 (2), 157-162.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.L. de. 2004. Hematologia de peixes teleósteos. *Biblioteca Central FMRP-USP. Ribeirão Preto/SP*. 144p.
- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., Dias, D.C., Sussel, F.R, Ishikawa, C.M., Tachibana, L. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile *Oreochromis niloticus* raised at a different stocking densities. *Fish & Shellfish Immunology* 39, 305-311.
- Tsadik, G. G., Bart, A. N. 2007. Effects of feeding, stocking density and water-flow rate on fecundity, spawning frequency and egg quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Aquaculture* 272, 380-388.
- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2006. Manual for CASA aplicativo for Image J. Available in: <<<http://rsbweb.nih.gov/ij/aplicativos/docs/CASAinstructions.pdf>>> Access in Sept, 14, 2009.
- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2007. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology* 67, 661-672.

Reprodutores de tilápia-do-nylo de uma piscicultura comercial alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína

Nile tilapia broodstock fed diets with different protein levels in commercial fish farm's

1. Resumo

O efeito de seis dietas com diferentes níveis de proteína bruta (32A, 32B, 36, 38, 44 e 50% PB) foram avaliados em uma piscicultura comercial, produtora de alevinos de tilápia-do-nylo. Após 30 semanas experimentais (setembro/2014 a março/2015) verificaram-se valores da taxa de eclosão de 91% dos ovos dos peixes alimentados com dietas contendo 44% de PB, apresentando uma produção de larvas viáveis 16,4 % superior em relação ao tratamento contendo 32% de PB. Contudo, a produção de ovos e taxa de fecundidade absoluta entre todos os tratamentos foram similares, sem diferenças estatísticas ($p > 0,05$). Os parâmetros espermáticos: motilidade (MOT), velocidade média do deslocamento (VAP), velocidade em linha reta (VLS) e velocidade curvilínea (VCL), apresentaram valores de desempenho satisfatório no tratamento contendo 44% PB ao contrário do tratamento com 36% PB. As análises sanguíneas das matrizes demonstraram que as diferentes dietas não influenciaram na concentração de eritrócitos e hematócritos, assim como, o volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular médio (VHCM) e a contagem diferencial de leucócitos. No estudo econômico observou-se menor lucratividade com 32% de PB e os maiores lucros à medida que se aumentou a inclusão de PB. Concluiu-se que, não foram encontradas respostas significativas no desempenho reprodutivo das fêmeas, apesar de apresentarem valores satisfatórios ao sucesso da produção em escala comercial. Contudo, na maioria dos parâmetros avaliados nos machos constatou-se a hipótese inicial, assim como para o crescimento das larvas e estudo de viabilidade econômica, propondo a utilização de dietas contendo 44% de PB em rações para matrizes de tilápia-do-nylo.

Palavras-chave: Desempenho reprodutivo, hematologia, sobrevivência, sêmen, larvas.

2. Abstract

The effect of six diets with different levels of crude protein (32A, 32B, 36, 38, 44 and 50% CP) were evaluated in a commercial fish farm of fingerlings' Nile tilapia. After 30 weeks there were observed values of 91% hatching rate in the treatment containing 44% CP, with a production of viable larvae 16.4% higher than in the treatment containing 32% CP. However, the production of eggs and absolute fecundity rates among all treatments were similar with no statistical differences ($p > 0.05$). Sperm parameters: motility (MOT), average speed of displacement (VAP), straight-line speed (VLS) and curvilinear velocity (VCL), showed satisfactory performance values in the treatment containing 44% CP unlike treatment with 36% CP. Blood tests demonstrated that the different diets did not affected, the concentration of erythrocytes and hematocrit levels, as well as the mean corpuscular volume (MCV), the mean corpuscular hemoglobin concentration (VHCM) and differential leukocyte count. The economic study found lower profitability with 32% CP and higher profits as it increased the inclusion of PB. In conclusion, there were no significant responses in female reproductive performance, despite having values satisfactory to the success of the production on a commercial scale. However, in most of the parameters evaluated in males we found that the initial hypothesis, as well as the growth of larvae and economic feasibility studies, proposing the use of diets containing 44% crude protein in diets for broodstock of Nile tilapia.

2.2. Keywords: reproductive performance, hematology, survivor, semen, fry.

3. Introdução

Embora avanços consideráveis tenham ocorrido, existe ainda necessidade de pesquisas para a determinação das exigências nutricionais de tilápia em função da linhagem, categoria de peso ou idade, bem como, para reprodutores (Furuya et al., 2013). A determinação das exigências nutricionais de reprodutores, em particular, é uma necessidade frente à expansão da atividade e imediata, visto a demanda qualitativa e quantitativa.

Sabe-se que a nutrição de reprodutores é importante no fornecimento de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das gônadas, ovos e larvas (Lupatsch et al., 2010). A tilápia possui desova parcelada, assincrônica e baixas taxas de fecundidade e seu processo reprodutivo tem recebido atenção especial nos últimos anos (Ng & Romano, 2013; Lupatsch et al. 2010; Coward & Bromage, 2000).

Neste contexto, a relevância de proporcionar dietas adequadas às matrizes de tilápia-do-nilo, de maneira a potencializar o desempenho reprodutivo é inquestionável. Logo, considerando-se as limitações na qualidade de ovócitos e espermatozoides, a fim de garantir maior produção de gametas e, conseqüentemente, a produção de larvas e alevinos em grande escala (Navarro et al., 2014), inúmeros efeitos da inclusão de níveis de proteína (PB) no comportamento reprodutivo dessa espécie foram descritos por Gunasekera et al., (1996); Al-Hafedh et al., (1999); El-Sayed & Kawanna, (2008) e Oliveira et al., (2014). Contudo, os resultados destes estudos não esclarecem qual a exigência proteica adequada para os reprodutores de tilápia (Siddiqui et al., 1998), nem tão pouco o efeito da proteína na qualidade dos ovos (Lupatsch et al., 2010).

Uma revisão publicada por Ng & Romano (2013) sobre nutrição e manejo alimentar de tilápia mostrou a necessidade de inclusão de nutrientes de alta qualidade, principalmente no processo de vitelogenese, evitando-se também sinais de atraso no processo de maturação gonadal, baixas taxas de eclosão, fertilização e motilidade espermática, fatos que evidenciam a importância da nutrição no desenvolvimento reprodutivo.

É evidente a necessidade de pesquisas voltadas à elaboração de rações específicas para as matrizes apontadas por Ng & Romano (2013), ainda segundo os autores, os resultados de níveis de inclusão de PB entre 30 e 40%, valores estes muito amplos, dificultando a elaboração de rações específicas podendo interferir no custo final de produção, de maneira considerável (Grupo Âmbar Amaral, Raguife Rações® – Santa Fé

do Sul – SP). Ainda que comparativamente aos demais nutrientes, a proteína é o item mais dispendioso na formulação de dietas para os organismos aquáticos (NRC, 2011). Entretanto, o nível proteico da ração para as matrizes deve ser analisado de forma crítica, considerando-se que na prática, além da produção dos ovos e sua qualidade, deve-se avaliar o estado de saúde dos peixes frente aos constantes desafios dos sistemas de criação.

Portanto, sabendo da necessidade de se obter a dieta adequada para reprodutores e da importância que estes resultados terão para a atividade, este experimento teve por finalidade avaliar os parâmetros reprodutivos e sanguíneos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com rações contendo diferentes níveis proteicos.

4. Material e métodos

4.1. Localização e período

O experimento foi realizado na empresa Peixe Vivo Aquacultura[®], no município de Santa Fé do Sul-SP/Brasil (latitude 20°12'40" sul e longitude 50°55'33" oeste), no período de setembro/2014 a março/2015.

4.2. Análise da água

Os valores de temperatura da água (°C), oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹) e pH foram registrados com auxílio de potenciômetros digitais, enquanto para determinar a transparência (m) da água utilizou-se o disco de Secchi. Diariamente todas as variáveis foram registradas.

4.3. Desenho experimental

Foram selecionadas e sexadas 3.840 matrizes de tilápia-do-nilo, variedade GIFT, linhagem Aqua América[®] 1, sendo 2.880 fêmeas (197,63 ± 62,57 g) e 960 machos (218,7 ± 65,05 g), sendo estes colocados para início de corte e cópula nos hapas pela primeira vez. Os animais foram pesados (g) e medidos (cm), antes de serem acondicionados em “hapas” (malha 1,0 mm, medindo 10,0 x 3,0 x 0,80 m), na proporção de 3 fêmeas/1 macho, totalizando 160 peixes por hapa, instalados em um viveiro (2.000 m²). A fim de se obter uma melhor oxigenação no interior dos hapas e evitar a colmatação das telas, um sistema de bombas foi instalado de maneira a realizar uma aspersão com a própria água do tanque sobre os mesmos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado composto por seis tratamentos e quatro repetições.

4.4. Dietas experimentais

O experimento utilizou quatro dietas experimentais e outras duas dietas comerciais utilizadas por grande parte das empresas produtoras de alevinos. As quatro dietas experimentais contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB) (32A; 38; 44 e 50 % PB) e 3.500 kcal de energia (Tabela 1) foram formuladas e processadas na fábrica de rações experimentais, localizada no Instituto de Pesca, APTA-Centro avançado de Pescado Continental, São José do Rio Preto São Paulo/Brasil. As matérias primas foram pesadas, homogeneizadas e moídas a granulometria de 0,7 mm, em moinho de martelo Vieira[®], logo em seguida, foram novamente homogeneizadas e levadas à extrusão em máquina FERRAZ[®] E62, e secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 24 h. Quanto às rações comerciais (32B e 36% de PB e 3.500 kcal, estas foram adquiridas em uma fábrica de ração localizada em Santa Fé do Sul-SP, a qual tem expressiva venda em toda região.

Tabela 1. Ingredientes das rações experimentais ofertadas aos reprodutores de tilápia-do-nilo durante a realização do experimento.

Ingredientes (%)	Dietas (% PB)			
	32	38	44	50
Farinha de penas	1,00	1,50	2,50	2,80
Farinha de vísceras	11,00	12,00	15,00	16,50
Soja 60% SPC	20,00	24,00	29,00	32,50
Protenose	2,00	3,00	4,50	5,52
Farelo de Trigo	8,77	8,20	4,58	3,20
Farinha de trigo	0,00	1,00	4,00	5,00
Macrogard ¹	0,03	0,03	0,03	0,03
Active MOS ²	0,50	0,50	0,50	0,50
Quirera de arroz	34,75	27,06	18,45	11,50
Farinha de Carne e Ossos	2,06	4,00	0,68	0,00
Farinha de peixe	10,00	12,00	13,50	15,00
Farinha Sangue spray dried	1,50	2,00	3,50	4,00
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	1,50	0,89	0,82	0,57
Óleo de soja	4,00	1,00	0,47	0,00
Vitamina C 35%	0,48	0,17	0,17	0,17
Cloreto de Colina 70%	0,20	0,20	0,20	0,20
L-Lisina	0,10	0,20	0,20	0,19
L-Treonina	0,12	0,20	0,06	0,23
Taurina	0,10	0,10	0,10	0,10
DL-Metionina	0,24	0,40	0,19	0,44
Oxinydry ³	0,10	0,10	0,10	0,10
Adsorvente de micotoxina	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico	0,30	0,20	0,20	0,20
Orego-Stim ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix ⁵	0,70	0,70	0,70	0,70
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

¹β- Glucano (Biorigin[®]), ² Mananoligossacarídeo (Biorigin[®]), ³Antioxidante, ⁴Óleos essenciais (Meriden Animal Health[®]), ⁵ Suplemento Vitamínico e Mineral (In Vivo[®]) – níveis de garantia por kg do produto: Vit. A=12.000,00 UI/kg; Vit. D3= 3.000.000 UI/kg; Vit. E = 150,0 mg; Vit. K3 = 15,00 mg; Vit. B1 = 20,00 mg; Vit. B2 = 20,00 mg; Vit. B6 = 17,50 mg; Vit. B12 = 40,00 mcg; Vit. C = 300.000 mg; Ácido Nicotínico = 100,00 mg; Ácido Pantotênico = 50,00 mg; Biotina = 1,00 mg; Ácido Fólico = 6,00 mg; Antioxidante = 25,00 mg; Sulfato de Cobre = 17,50 mg; Sulfato de Ferro = 100,00 mg; Sulfato de Manganês = 50,00 mg; Sulfato de Zinco = 120,00 mg; Iodeto de Cálcio = 0,80 mg; Sulfato de Sódio = 0,50 mg; Sulfato de Cobalto = 0,40 mg; Inusitol = 125,00 mg; Colina = 500,00.

As rações foram encaminhadas à CBO-Análises Laboratoriais, Campinas, São Paulo, a fim de se verificar a concentração de proteína bruta, energia bruta, matéria

mineral, extrato etéreo e composição aminoacídica (Tabela 2), seguindo-se a metodologia de El Sayed et al., (2003) de acordo com a metodologia da AOAC (1980).

O período de ajuste dos reprodutores à ração foi de 30 dias anteriores ao início das coletas (setembro/2014), calculando-se a oferta de ração em 1% do peso do peixe em dias alternados, durante todo o período experimental, similar ao sugerido por Siddiqui et al., (1997) e Lupatsch et al., (2010).

4.5. Coleta de ovos

Durante o período reprodutivo fêmeas e machos permaneceram juntos nos hapas ocorrendo à reprodução de forma espontânea, à medida que foram constituídos casais dentro dos hapas. As coletas de ovos foram realizadas semanalmente, verificando-se todas as fêmeas individualmente e ao observar a presença de ovos na boca, estes foram retirados imergindo-se a fêmea em um balde com água do próprio viveiro, abrindo-se os opérculos de maneira a forçar a passagem da água pelos mesmos, de forma que, todos os ovos fossem retirados da boca. Os ovos foram levados ao laboratório para registro do volume (*mL*) produzido por hapa, retiradas amostras para contagem e medição do diâmetro (μm). O restante dos ovos foi mantido, individualmente, em incubadoras (2000 mL), sendo utilizada uma por repetição, totalizando 24 incubadoras, com recirculação de água e controle das variáveis físicas e químicas, até o nascimento das larvas com total absorção do saco vitelínico. As larvas foram contadas, utilizando uma peneira com o número de larvas já conhecido, para a verificação dos valores das taxas de eclosão. Todo o procedimento envolvido desde a coleta dos ovos até a contagem das larvas, como citados acima, foram os mesmos protocolos utilizados pela piscicultura nos outros tanques de reprodução comercial, semelhantes ao tanque onde o experimento foi instalado.

Para a avaliação do diâmetro médio dos ovos utilizou-se uma amostragem de 20 ovócitos por tratamento, coletados durante todo ciclo reprodutivo em estudo. Primeiramente as amostras foram documentadas em um estereomicroscópio acoplado à câmera digital (Bel – 150 X), cujo diâmetro foi calculado pela média aritmética do maior eixo horizontal e vertical por meio de software livre e, em seguida, as médias comparadas entre os tratamentos.

Tabela 2. Composição centesimal das rações experimentais ofertada aos reprodutores de tilápia-do-nylo durante 25 semanas.

Composição	Dietas (% PB)			
	32	38	44	50
Umidade %	5,65	7,15	6,11	5,26
Proteína Bruta %	32,21	38,34	44,61	50,78
Extrato etéreo %	7,78	4,00	5,31	4,90
Fibra Bruta %	2,40	2,57	2,46	2,49
Cálcio %	2,69	3,13	3,64	3,10
Fósforo %	1,50	1,63	1,96	1,63
Arginina %	2,10	2,44	2,77	3,00
Lisina %*	2,00	2,51	2,85	3,20
Metionina+ Cisteína %*	1,08	1,26	1,26	1,59
Treonina %*	1,44	1,82	2,09	2,36
Triptofano %*	0,34	0,40	0,48	0,52
Metionina %*	0,86	1,13	1,03	1,41
Energia Digestível ¹ *	3550,61	3454,79	3523,41	3546,36
Proteína Digestível %*	27,03	32,00	37,08	40,93
Amido %*	30,00	25,27	20,50	16,00

*Valor calculado, ¹Metionina + Cisteína.

4.6. Coleta de sêmen

Para as coletas de sêmen foram selecionados 70 machos maduros, sendo 10 na primeira coleta (coleta inicial – Ago./2014) e 30 peixes para coleta aos 90 dias (Nov./2015) e 210 (Mar./2015). Nas coletas inicial e final o sêmen foi retirado diretamente nos testículos do animal eutanasiados. Aos 90 dias realizou-se a coleta por meio de seringas de insulina sem agulha após massagem ventral sentido céfalo-caudal. Para todas as coletas, evitou-se a contaminação do sêmen com urina e sangue. O sêmen coletado foi imediatamente avaliado com relação aos parâmetros espermáticos computadorizados e fixado para análises de sobrevivência espermática e percentual de espermatozoides normais e concentração espermática.

Os parâmetros de motilidade espermática foram avaliados pelo método CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*), empregando-se o procedimento adotado por Wilson-Leedy & Ingermann (2007) para análises a partir de *softwares* de código aberto ImageJ/Plugin CASA. Os vídeos foram capturados a 100fps (640x480 pixels) e processados conforme descrição de Wilson-Leedy and Ingermann (2006), Sanches et al. (2010; 2013), sendo que as configurações utilizadas foram adaptadas para tilápia-do-nylo. Os parâmetros espermáticos obtidos a partir de três réplicas por macho foram: taxas de motilidade (MOT), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média do deslocamento (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) nos tempos 10, 30 e 60 segundos após ativação espermática com água destilada. O tempo de 60 segundos apenas não foi avaliado na primeira coleta.

4.7. Coleta de larvas

Foram coletadas amostras de oito larvas por tratamento no sétimo dia após a eclosão e absorção do saco vitelínico para registro do comprimento total (mm), utilizando-se os mesmos procedimentos realizados para a medição do diâmetro dos ovos (item 2.5).

4.8. Coleta e análises de sangue

As análises hematológicas foram realizadas no início (Ti), com 90 dias (Tm) e com 210 dias (Tf) seguindo-se o protocolo de Ranzani-Paiva et al., (2013) para determinação do número total de células, contagem diferencial e total dos leucócitos e contagem total de trombócitos, segundo Rosenfeld (1947), hematócrito, pelo método do micro hematócrito de acordo com Goldenfarb et al., (1971) e taxa de hemoglobina, pelo método da cianometahemoglobina. Com os valores das taxas de hemoglobina (Hb), do hematócrito (Ht) e do número de eritrócitos (Er) calcularam-se os índices hematimétricos absolutos: VCM (volume corpuscular médio, $Htx10/Er$) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média, $Hbx100/Ht = \%$).

4.9. Análise estatística

Para as análises estatísticas dos parâmetros morfométricos, reprodutivos e sanguíneos avaliados foi utilizado o programa Statistica 7.0 (Statsoft 2005), sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando observadas diferenças ($P < 0,05$), foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível de significância.

Para os valores espermáticos obtidos nas coletas do meio e final em 10, 30 e 60 segundos após ativação espermática, aplicou-se análise de variância de um fator (*one-way ANOVA*), considerando os machos como réplicas e os diferentes níveis de proteína bruta como tratamento ao nível de 5% de significância, em caso de efeito significativo, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível de significância. Os resultados da coleta final foram comparados também com os valores obtidos no momento inicial, antes do início da alimentação, para tanto, realizou-se uma análise de comparação de médias de Dunnett a 5% de significância, considerando o momento inicial como controle para os tempos de 10 e 30s após ativação espermática. Os pressupostos de homogeneidade dos resíduos e homocedasticidade de variância foram

avaliados por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, ao mesmo nível de significância.

4.10. Análise econômica

Nos cálculos foram considerados apenas os gastos com a produção, não levando em conta os investimentos e, conseqüentemente, a depreciação dos bens duráveis. Para tal, admitiu-se uma situação de produção semelhante à proposta nesse trabalho, na qual fossem utilizadas 3840 matrizes por tratamento (2880 fêmeas e 960 machos) distribuídos em 24 hapas, em um viveiro de 2.000m², e que a oferta de ração seria de 1% do peso vivo em dias alternados, tendo-se considerado o período experimental de 210 dias. Visando estimar os custos de produção mensal, foi adaptada a metodologia proposta pelo Instituto de Economia Agrícola de São Paulo (MATSUNAGA *et al.*, 1976; MARTIN *et al.*, 1994). No cálculo do custo operacional efetivo (COE) foram consideradas as despesas com ração para matrizes, ração utilizada durante a reversão, e funcionário responsável pela alimentação e cuidados com as larvas e matrizes (Tabela 3). Nesse cálculo, não foram consideradas as despesas referentes à embalagem, comercialização, marketing e impostos incidentes na venda.

O custo operacional total (COT) foi composto pela soma do COE mais encargos sociais advindos da contratação de mão-de-obra (contribuição ao INSS, férias e outras despesas), que foram considerados 43% do valor do salário (AYROZA *et al.*, 2011) (Tabela 3). Nos cálculos foram tomados como base os valores obtidos no presente trabalho para o número de larvas produzidas em cada tratamento (larvas pós-eclosão), e considerada taxa de mortalidade de 17,50% durante o período de reversão. Posteriormente, foi calculado o custo para produção do milheiro de larvas pós reversão ($Custo\ milheiro = n\ larvas / custo\ operacional\ total \times 1000$). Ademais, também foi estimada a receita bruta (RB) como o produto do número de larvas obtido para cada grupo e o preço de venda (larvas pós eclosão, 1000 unidades: R\$50,00; larvas pós reversão, 1000 unidades: R\$115,00; $RB = n\ larvas \times preço\ de\ venda / 1000$). O lucro operacional (LO) foi calculado como a diferença entre RB e COT ($LO = RB - COT$), e a margem bruta (MB), como a margem de lucro obtida em relação ao COT, sendo $MB = (LO / COT) \times 100$.

Tabela 3. Itens e valores do custo operacional efetivo (COE) e total (COT) da produção de larvas de tilápia-do-nilo a partir de matrizes alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta.

Tratamentos	Itens COE				Funcionário (R\$)*	COE (R\$)	COT (R\$)
	Ração matrizes		Ração reversão				
	Custo kg (R\$)	Custo total (R\$)	Custo kg (R\$)	Custo total (R\$)			
T1 32A	1,58	1925,50	5,25	72338,68	17420,45	91684,63	116595,88
T2 32B	2,43	2961,37	5,25	70459,00	17420,45	90840,83	115752,08
T3 36	2,24	2729,83	5,25	77994,46	17420,45	98144,74	123055,99
T4 38	2,50	3046,68	5,25	78420,92	17420,45	98888,05	123799,30
T5 44	2,58	3144,17	5,25	84236,53	17420,45	104801,16	129712,41
T6 50	2,74	3339,16	5,25	88221,59	17420,45	108981,20	133892,45

*Despesa com um funcionário de 59 horas de dedicação semanal, considerando-se o salário de R\$ 1500,00.

5. Resultados

5.1. Análise da água

Os valores médios de temperatura da água mantiveram-se a $28,0 \pm 2,23$ °C, oxigênio dissolvido com $6,77 \pm 2,03$ mg/L, pH em $6,8 \pm 0,54$ e transparência em $32,0 \pm 2,67$ cm durante os sete meses de experimento.

5.2. Parâmetros morfométricos

Verificaram-se no estudo que, as médias de peso final (PF) e ganho em peso (GP) das matrizes não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as seis rações ofertadas (Tabela 4), assim como, para as médias do comprimento final (CF).

Tabela 4. Parâmetros morfométricos e reprodutivos de fêmeas de tilápias-do-nilo, alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

(% PB)	Dietas ¹					
	32A %	32B %	36%	38%	44%	50%
Morfométricos						
PIF ² (g)	197,63 ± 62,57	197,63 ± 62,58	197,63 ± 62,59	197,63 ± 62,60	197,63 ± 62,61	197,63 ± 62,62
PFF ³ (g)	299,44 ± 71,73	300,55 ± 79,86	317,22 ± 68,83	297,77 ± 112,30	250,55 ± 33,67	322,22 ± 67,36
PIM ⁴ (g)	218,7 ± 65,05	218,7 ± 65,05	218,7 ± 65,05	218,7 ± 65,05	218,7 ± 65,05	218,7 ± 65,05
PFM ⁵ (g)	280 ± 42,27	310 ± 64,71	289,44 ± 51,01	323,3 ± 55,62	368,55 ± 7316	341,66 ± 38,16
Reprodutivos						
VTO ⁶ (mL)	15835	14665	16755	14340	15255	16380
NTO ⁷	246868	228627	261210	223561	237825	255364
DO ⁸ (mm)	2,19 ± 0,18	2,09 ± 0,05	2,18 ± 0,17	2,15 ± 0,12	2,25 ± 0,16	2,16 ± 0,17
FA ⁹	1171,90 ± 520,08	1019,58 ± 486,07	1081,64 ± 509,75	948,74 ± 425,74	884,20 ± 342,18	1137,30 ± 804,00
% D ¹⁰	20	21	23	22	24	22
TL ¹¹	185573	180751	200082	201176	216095	226318
% SL ¹²	75	79	77	90	91	89
CTL ¹³ (mm)	6,78 ± 0,24 ^a	6,80 ± 0,18 ^a	6,79 ± 0,28 ^{ab}	7,99 ± 0,20 ^{bc}	8,01 ± 0,18 ^{bc}	8,19 ± 0,17 ^c

¹Dietas (% PB); ²Peso Inicial Fêmea, ³Peso Final Fêmea, ⁴Peso Inicial Macho, ⁵Peso Final Macho, ⁶Volume Total de Ovos, ⁷Número Total de Ovos, ⁸Diâmetro dos Ovos, ⁹Fecundidade Absoluta, ¹⁰Desovas, ¹¹Total Larvas, ¹²Sobrevivência Larvas, ¹³Comprimento Total Larvas.*Valores obtidos durante todo o período experimental.* Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (teste de comparação múltipla a posteriori, media dos grupos, $p < 0,05$).

5.3. Parâmetros reprodutivos

Fêmeas

Após 210 dias de experimento, fêmeas de tilápia alimentadas com seis diferentes dietas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento reprodutivo (Tabela 4). Pode-se observar que, o volume de ovos produzido por tratamento, não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) ao final de 30 semanas de coleta, assim como o número total de ovos produzidos.

Quanto à fecundidade absoluta infere-se que houve conformidade entre os resultados à medida que se observa o desvio entre os tratamentos e os testes estatísticos de que não ocorreram diferenças relevantes entre os mesmos. Entre os seis níveis de inclusão de PB também não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação ao diâmetro dos ovos, a porcentagem de desovas por fêmeas e os valores da taxa de sobrevivência das larvas.

Em se tratando do número total de larvas produzidas, apesar de se ter constatado que os maiores níveis de inclusão de PB apresentaram valores superiores, estes não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$). Porém, o aumento do nível proteico nas dietas influenciou significativamente o comprimento total das larvas.

Machos

Observou-se que os valores das taxas de motilidade espermática e as velocidades avaliadas (VCL, VAP e VSL) não apresentaram efeito ($p > 0,05$) nos diferentes níveis de proteína bruta na ração nos tempos de 10, 30 e 60s após ativação durante os 90 dias iniciais de alimentação (Tabelas, 5, 6, 7).

Tabela 5. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 10s após ativação de tilápias-do-nilo após 90 dias de alimentação (Tm) com diferentes níveis de proteína bruta.

Proteína Bruta (%)	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
32A	88,32±9,04	115,05±14,88	54,44±3,85	46,42±2,83
32B	83,54±10,84	116,05±18,45	51,90±5,48	42,84±4,96
36	82,45±6,59	98,58±10,34	52,65±6,38	46,58±5,34
38	89,42±6,16	114,91±9,15	57,17±8,20	47,88±728
44	89,01±3,98	112,42±12,18	57,68±10,08	48,71±12,27
50	89,62±4,11	115,89±10,10	61,58±5,81	50,71±6,97
F-valor	(5,18)=0,78	(5,18)=1,10	(5,18)=1,09	(5,18)=0,54
p-valor	0,5743	0,3950	0,3975	0,7452

MOT-Taxas de motilidade espermática. VCL-Velocidade curvilínear. VAP - Velocidade média de deslocamento. VSL - Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F-valor - Valor de F calculado. p-valor -probabilidade de erro.

Os valores dos parâmetros espermáticos avaliados em 10s após ativação e no momento final apresentaram influência ($p < 0,05$) dos níveis de proteína bruta apenas para os parâmetros VAP (velocidade média de deslocamento) e VSL (velocidade em linha reta), sendo os menores valores observados no nível de 38% de PB (Tabela 8). Este nível também apresentou o menor valor ($p < 0,05$) para VCL (velocidade curvilínea) quando comparado aos valores da coleta inicial. Com relação à coleta inicial, os demais parâmetros foram semelhantes em todos os níveis de proteína testados (Tabela 8).

Tabela 6. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 30s após ativação de tilápias-do-nilo após 90 dias de alimentação (Tm) com diferentes níveis de proteína bruta.

Proteína Bruta (%)	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
32A	85,54±10,61	87,16±12,33	40,69±2,65	36,40±1,87
32B	77,67±13,31	86,26±16,59	39,31±5,14	34,52±4,18
36	73,67±16,00	75,83±7,52	38,60±3,92	34,96±3,48
38	83,40±8,29	82,15±7,13	38,82±2,88	34,17±3,72
44	82,47±3,43	77,33±13,59	38,70±7,32	34,57±6,75
50	85,96±6,60	85,12±12,12	42,55±5,68	37,21±4,90
F-valor	(5,18)=0,84	(5,18)=0,63	(5,18)=0,41	(5,18)=0,32
p-valor	0,5408	0,6789	0,8358	0,8936

MOT - Taxas de motilidade espermática. VCL - Velocidade curvilínea. VAP - Velocidade média de deslocamento. VSL - Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F-valor - Valor de F calculado. p-valor - probabilidade de erro.

Para o tempo de 30s após ativação, verificou-se que as velocidades VCL, VAP e VSL foram influenciadas ($p < 0,05$) pelos diferentes níveis de proteína bruta na ração, aos quais, os menores valores foram nos animais alimentados com ração contendo 36% de PB e os maiores para 44 % de PB (Tabela 9). Os valores de VCL de animais alimentados com 36 e 38 % de PB foram os únicos que diferiram ($p < 0,05$) do momento inicial, apresentando valores inferiores (Tabela 9).

Tabela 7. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 60s após ativação de tilápias-do-nilo após 90 dias de alimentação (Tm) com diferentes níveis de proteína bruta.

Proteína Bruta (%)	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
32A	68,88±13,53	58,93±6,03	26,69±1,43	24,37±1,68
32B	53,28±15,47	62,08±15,94	27,12±5,69	23,84±5,19
36	47,61±19,39	53,93±7,37	24,98±5,20	22,54±5,24
38	54,43±12,46	56,80±6,34	24,56±2,89	21,57±2,10
44	41,72±21,36	54,36±10,44	23,66±5,90	21,23±5,27
50	69,48±16,00	61,58±10,45	28,76±3,77	25,25±2,91
F-valor	(5,18)=1,82	(5,18)=0,49	(5,18)=0,72	(5,18)=0,63
p-valor	0,1597	0,7794	0,6147	0,6767

MOT-Taxas de motilidade espermática. VCL-Velocidade curvilínea. VAP-Velocidade média de deslocamento. VSL-Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F-valor - Valor de F calculado. p-valor - probabilidade de erro.

Tabela 8. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 10s após ativação de tilápias-do-nilo após 210 dias de alimentação (Tf) com diferentes níveis de proteína bruta.

Tratamentos	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
Início	65,53±21,72	123,55±24,88	62,78±17,14	56,61±15,63
32A	80,00±7,14	106,82±9,13	56,98±7,59 ^a	51,36±6,07 ^a
32B	70,76±10,33	104,64±13,90	63,56±7,27 ^a	59,15±6,30 ^a
36	80,38±7,14	112,68±7,56	65,26±2,96 ^a	60,25±2,50 ^a
38	71,79±16,18	89,71±15,62*	46,13±8,01 ^b	43,54±7,27 ^b
44	73,14±10,98	108,40±8,69	58,64±5,26 ^a	53,80±6,84 ^a
50	74,46±7,98	110,37±13,57	59,65±4,62 ^a	54,60±6,03 ^a
F-valor	(5,24)=0,79	(5,24)=2,45	(5,24)=5,89	(5,24)=5,00
p-valor	0,5689	0,0667	0,0011	0,0028

Início - Valores obtidos antes de início da alimentação dos animais pelas dietas experimentais (Tratamentos - Níveis de proteína bruta em %). MOT - Taxas de motilidade espermática. VCL - Velocidade curvilínea. VAP - Velocidade média de deslocamento. VSL - Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F e p-valor - Valores de F calculado e probabilidade de erro, respectivamente, para os diferentes níveis de proteína bruta. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os níveis de proteína de acordo com o teste de comparação de médias de Tukey. * Diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com a coleta inicial de acordo com o teste de comparação de médias de Dunnett.

Já para 60s após ativação observou-se que apenas VCL não foi influenciada ($p > 0,05$) pelos níveis de PB na ração, sendo que para MOT, VAP e VSL, maiores valores em 44% de PB e menores em 36% de PB (Tabela 10).

Em resumo, nos três momentos de avaliação (10, 30 e 60s após ativação), constatou-se que os maiores valores estiveram presentes no tratamento contendo 44% de PB e os menores em 36 ou 38% de PB (Figura 1).

Tabela 9. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 30s após ativação de tilápias-do-nilo após 210 dias de alimentação ("coleta final") com diferentes níveis de proteína bruta.

Tratamentos	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
Início	52,37±21,78	84,184±14,16	37,14±9,65	34,37±9,24
32^a	68,78±16,67	74,90±7,73 ^a	37,98±4,93 ^a	35,64±4,60 ^a
32B	60,61±12,96	70,89±8,46 ^a	40,00±4,61 ^a	38,07±4,71 ^a
36	56,43±9,98	64,61±8,87 ^{b*}	33,31±3,79 ^b	31,32±3,36 ^b
38	65,52±20,30	67,72±10,99 ^{a*}	35,19±5,10 ^a	33,66±4,95 ^a
44	67,39±7,02	81,92±6,03 ^c	43,66±4,08 ^c	40,66±4,16 ^c
50	60,80±8,59	74,85±6,69 ^a	37,73±2,72 ^a	35,64±2,98 ^a
F-valor	(5,24)=0,62	(5,24)=2,73	(5,24)=3,60	(5,24)=3,04
p-valor	0,6825	0,0431	0,0143	0,0289

Início - Valores obtidos antes de início da alimentação dos animais pelas dietas experimentais (Tratamentos - Níveis de proteína bruta em %). MOT - Taxas de motilidade espermática. VCL - Velocidade curvilínea. VAP - Velocidade média de deslocamento. VSL - Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F e p-valor - Valores de F calculado e probabilidade de erro, respectivamente, para os diferentes níveis de proteína bruta. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os níveis de proteína de acordo com o teste de comparação de médias de Tukey. * Diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com a coleta inicial de acordo com o teste de comparação de médias de Dunnett.

Tabela 10. Parâmetros espermáticos computadorizados avaliados em 60s após ativação de tilápiado-nilo após 210 dias de alimentação ("coleta final") com diferentes níveis de proteína bruta.

Proteína Bruta (%)	MOT (%)	VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
32A	40,96±15,38 ^a	50,53±7,28	21,87±2,44 ^a	20,47±2,32 ^a
32B	28,12±14,32 ^a	49,66±5,98	23,66±2,93 ^a	21,61±3,04 ^a
36	14,38±6,70 ^b	45,54±10,74	20,32±4,66 ^b	18,24±3,80 ^b
38	42,35±17,29 ^a	49,06±7,34	22,83±3,65 ^a	21,63±3,34 ^a
44	49,71±11,48 ^c	58,94±8,04	29,95±4,98 ^c	28,45±4,94 ^c
50	36,32±6,03 ^a	52,90±4,16	25,07±1,17 ^a	23,09±1,75 ^a
F-valor	(5,24)=4,90	(5,24)=1,80	(5,24)=4,44	(5,24)=5,25
p-valor	0,0031	0,1506	0,0053	0,0021

MOT - Taxas de motilidade espermática. VCL - Velocidade curvilínea. VAP - Velocidade média de deslocamento. VSL - Velocidade em linha reta. 32A - ração comercial. 32B - ração experimental. F e p-valor - Valores de F calculado e probabilidade de erro, respectivamente, para os diferentes níveis de proteína bruta. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$) de acordo com o teste de comparação de médias de Tukey.

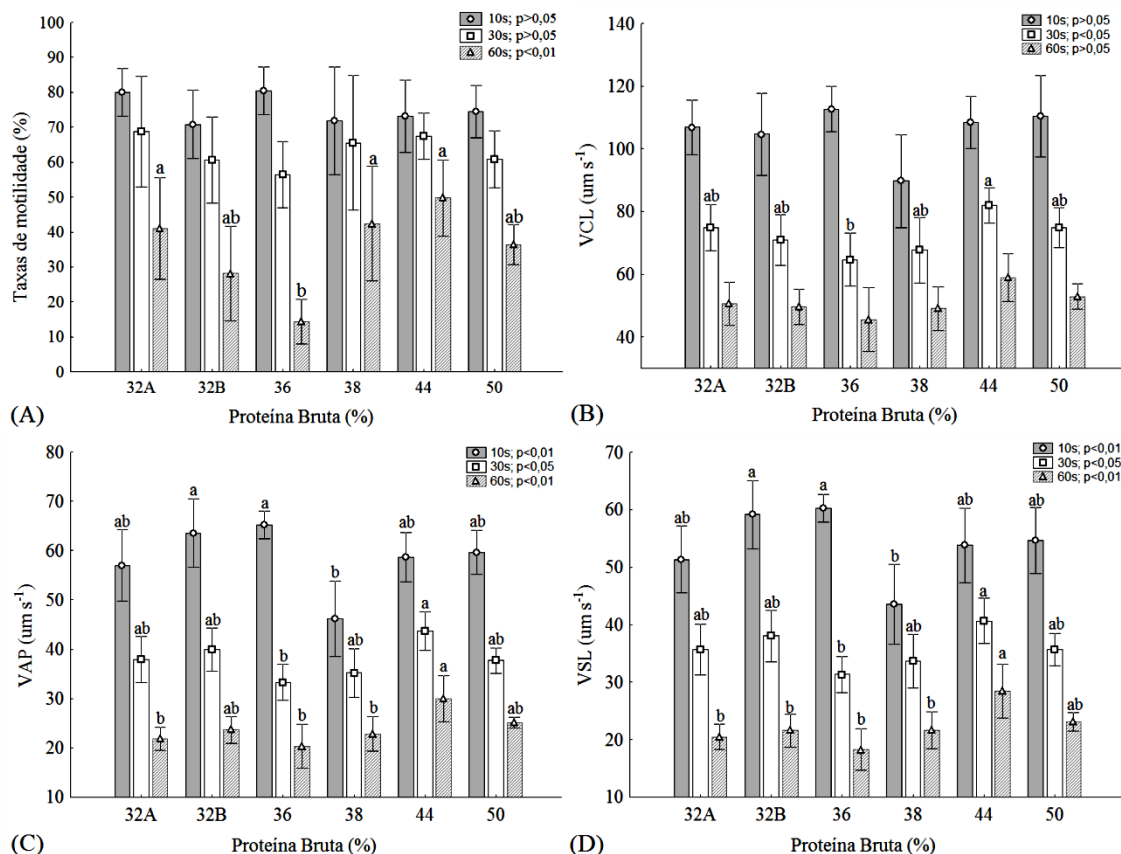


Figura 1. Parâmetros espermáticos de tilápiado-nilo submetidas a diferentes níveis de proteína bruta na dieta durante 30 semanas, obtidos em 10, 30 e 60 segundos após ativação espermática. (A) - Taxas de motilidade espermática. (B) - Velocidade curvilínea (VCL). (C) - Velocidade média de deslocamento (VAP). (D) Velocidade em linha reta (VSL). 32A - Ração comercial. 32B - Ração experimental. Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa ($p<0,05$) entre os níveis de PB de acordo com o teste de comparação de médias de Tukey para os diferentes níveis de proteína bruta.

5.4. Parâmetros sanguíneos

Avaliando os resultados da hematologia, constatou-se que, os valores dos eritrócitos e hematócritos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos (Tabela 11). Também não foram encontradas diferenças nos valores de concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os valores dos leucócitos e trombócitos, apesar de este último apresentar valores superiores em determinados tratamentos para as fêmeas, ambos não foram significativos ($p>0,05$).

Tabela 11. Parâmetros hematológicos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

Fêmeas	Dietas (% PB)					
	32A	32B	36	38	44	50
Er ¹ (cells mm ⁻³)	143,94 ± 19,50	163,83 ± 29,88	154,11 ± 22,10	157,16 ± 22,51	131,72 ± 26,82	138,05 ± 12,36
Ht ² (%)	23,16 ± 1,95	27,16 ± 5,14	29,22 ± 3,80	27,83 ± 3,94	28,61 ± 2,05	30,66 ± 3,00
Hb ³ (g dL ⁻¹)	5,97 ± 0,73	6,82 ± 1,46	6,58 ± 0,62	7,25 ± 1,04	7,13 ± 0,97	6,68 ± 0,54
VCM ⁴ (µm ⁻³) ¹	162,36 ± 14,67	166,65 ± 17,03	191,05 ± 24,46	178,45 ± 21,46	225,22 ± 47,53	222,85 ± 20,50
CHCM ⁵ (g dL ⁻¹) ²	25,76 ± 2,02	25,03 ± 1,93	22,71 ± 2,11	26,08 ± 1,76	24,86 ± 2,38	21,88 ± 1,95
Leu ⁶ (cells mm ⁻³)	35941 ± 3837	20878 ± 5475	38443 ± 10308	39744 ± 12883	29588 ± 6125	31256 ± 14702
Trb ⁷ (cells mm ⁻³)	34570 ± 5372	19008 ± 13246	25621 ± 12712	18347 ± 6604	39439 ± 18224	20186 ± 11082
Machos						
Er ¹ (cells mm ⁻³)	132,33 ± 16,82	124,06 ± 21,05	120,17 ± 26,27	125,5 ± 15,27	131,5 ± 22,28	129,28 ± 18,60
Ht ² (%)	24,56 ± 4,97	25,67 ± 5,86	25,23 ± 2,40	27,56 ± 3,18	27,95 ± 3,79	29,17 ± 4,78
Hb ³ (g dL ⁻¹)	6,56 ± 0,88	6,56 ± 1,00	6,55 ± 0,45	6,89 ± 0,69	7,12 ± 1,10	5,80 ± 2,39
VCM ⁴ (µm ⁻³) ¹	187,12 ± 38,09	206,87 ± 30,35	217,75 ± 46,12	222,09 ± 35,53	216,34 ± 38,77	225,85 ± 19,80
CHCM ⁵ (g dL ⁻¹) ²	27,15 ± 3,56	25,98 ± 2,82	26,08 ± 1,99	25,10 ± 1,93	25,42 ± 1,60	19,88 ± 7,60
Leu ⁶ (cells mm ⁻³)	26312 ± 12665	29226 ± 8090	30575 ± 15459	20119 ± 5369	30619 ± 16016	27354 ± 11897
Trb ⁷ (cells mm ⁻³)	21336 ± 19616	22197 ± 12990	26224 ± 14559	22191 ± 22192	22173 ± 8760	27570 ± 16340

¹Eritrócito, ²Hematócrito, ³Hemoglobina, ⁴Leucócitos, ⁵Trombócitos, ⁶Volume corpuscular médio (Htx10/Er)=VCM; ⁷concentração de hemoglobina corpuscular média (Hbx100/Ht = %)=CHCM.

Na contagem diferencial de leucócitos (Tabela 12), não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos e nem entre os sexos.

Tabela 12. Contagem total de linfócitos, neutrófilos e monócitos em reprodutores de tilápia-do-nilo alimentados com diferentes níveis de proteína bruta durante a realização do experimento.

Contagem diferencial: fêmeas			
Tratamento (%PB)	Linfócito	Neutrófilo	Monócito
32A	24112 ± 6802	6492 ± 4110	1066 ± 1176
32B	12918 ± 4688	6831 ± 3595	1128 ± 679
36	31328 ± 9824	6184 ± 2659	929 ± 803
38	27452 ± 12737	10616 ± 7404	390 ± 488
44	21331 ± 7245	4936 ± 3024	855 ± 1027
50	34733 ± 9158	2475 ± 1519	278 ± 314
Contagem diferencial: machos			
Tratamento (%PB)	Linfócito	Neutrófilo	Monócito
32A	23711 ± 13726	2256 ± 952	343 ± 419
32B	26147 ± 7036	2619 ± 1638	459 ± 490
36	22916 ± 10673	6595 ± 5327	1063 ± 1113
38	15709 ± 4452	3721 ± 2288	688 ± 586
44	25937 ± 15689	3916 ± 2753	765 ± 498
50	20302 ± 11282	5939 ± 1560	1112 ± 893

5.5. Análise econômica

Ao realizar o estudo econômico, estes apresentaram valores positivos para o lucro operacional (Tabela 13), tendo como ponto de partida seis tanques de reprodução, sendo que o tratamento contendo 50% de PB apresentou os maiores valores, assim como para a margem bruta (%) da atividade.

Tabela 13. Indicadores econômicos da produção de larvas de tilápia-do-nilo a partir de matrizes alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta.

Tratamentos	Total de larvas ¹	Custo/mil larvas (R\$)	Receita bruta (R\$)	Lucro operacional (R\$)	Margem bruta (%)
T1 32A	918586	107,97	105637,43	6462,00	6,52
T2 32B	894717	109,90	102892,51	4560,88	4,64
T3 36	990406	106,66	113896,68	8261,14	7,82
T4 38	995821	106,83	114519,44	8140,59	7,65
T5 44	1069670	104,98	123012,08	10720,12	9,55
T6 50	1120274	103,97	128831,52	12359,52	10,61

¹Produção aumentada em seis vezes (representando seis tanques de coleta) como ponto de partida para a lucratividade da atividade; decrescendo do valor total de larvas por tanque de reprodução uma mortalidade de 17,5%.

6. Discussão

As proteínas são fontes de nutrientes de maior importância na alimentação de peixes, responsáveis pela manutenção dos mecanismos fisiológicos reprodutivos, maturação gonadal, fecundidade, formação de gametas, fertilização dos ovos, vitelogênese e desenvolvimento ontogenético inicial (Washburn et al., 1990). No caso da tilápia, utiliza a proteína como fonte de energia para a realização dos processos reprodutivos, incluindo o comportamento agressivo dos machos, acasalamento, defesa de território e incubação dos ovos na boca (El-Sayed & Kawanna, 2008).

Ocorre que, ao iniciar o período de incubação dos ovos na boca, algumas espécies de Ciclídeos, entre elas, a tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* cessam a busca por alimentos, acabando por suprimir o crescimento, utilizando recursos corporais a fim de manter o sucesso reprodutivo (Coward & Bromage, 1999; 2000). No presente estudo observou-se este comportamento de modo que, ao fim de 30 semanas de experimento os valores de ganho em peso (GP) e comprimento final (CF), tanto dos machos como das fêmeas, foram mínimos e sem diferenças significativas entre os tratamentos, corroborando o que foi citado por Coward & Bromage (2000) e por Lupatsch et al., (2010) que verificaram baixos valores de GP em matrizes alimentadas com diferentes níveis de PB.

A nutrição de reprodutores é um fator não-genético importante e com maior potencial para determinar a viabilidade e a qualidade dos ovos e larvas recém-eclodidas

(Da Silva et al., 2008). É interessante considerar o sucesso reprodutivo das matrizes, de modo que, uma fêmea bem nutrida e adaptada às condições de confinamento têm totais condições de desempenhar sua capacidade máxima de produção de ovos. Valendo-se destas informações, quanto as matrizes avaliadas durante este experimento, observou-se que o volume, o número e tamanho dos ovos produzidos não apresentaram diferenças significativas entre as dietas ($p>0,05$), contudo, os valores obtidos foram expressivos e similares aos encontrados por Ng & Wang (2011).

A fecundidade é o número de ovos liberados por uma fêmea que depende em última instância, do volume da cavidade celomática disponível para alojar os ovários maduros e do tamanho desses ovos (Vazzoler, 1996). Segundo Coward & Bromage (2000), a qualidade e a disponibilidade dos alimentos influencia tanto o número quanto o tamanho dos ovos de tilápia, apesar de serem necessários mais estudos a este respeito. Contudo, Rana (1990) afirma existirem evidências de que a fecundidade está mais relacionada à idade das matrizes do que ao tamanho e nutrição, de maneira que o número de ovos aumenta à medida que a fêmea vai se tornando mais madura. Ainda em relação ao tamanho dos ovos Trewavas (1983) diz ser perceptível que ovos maiores são produzidos por fêmeas maiores.

Os resultados obtidos neste estudo em relação à fecundidade absoluta foram aceitáveis, porém, não demonstraram diferenças estatísticas entre os tratamentos, deduzindo que dietas com baixa concentração de PB (32%) foram tão eficazes quanto dietas com alto nível de proteína (50%). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Ng & Wang (2011), porém, Oliveira et al. (2014) apontaram dietas contendo 38% de PB sendo mais eficazes do que dietas contendo 32% de PB.

Pode-se destacar que existem fatores inter-relacionados que podem estar envolvidos na determinação do número de ovos em tilápias (Coward & Bromage, 2000), como o tamanho das matrizes, fêmeas maiores produzem mais ovos do que fêmeas menores e, assim existe uma grande variabilidade do número de ovos por desova (Lupatsch, 2010), a oferta de alimentos, o tempo de estudo ou até mesmo o número de indivíduos por tratamento, concluindo que estudos nesta linha de trabalho são muito bem vindos.

Dispondo das informações acima citadas, em relação ao papel fundamental dos nutrientes no sucesso da produção de peixes, Gunasekera et al., (1996) reforçam esta tese dizendo serem evidentes as atribuições da proteína na performance reprodutiva, na qualidade e na produção de larvas viáveis, de modo que, influenciam o desenvolvimento

e a produção dos ovos, levando-se em conta também o histórico nutricional da fêmea durante a desova.

Os resultados obtidos neste estudo apresentaram números de larvas viáveis relevantes à medida que se aumentou a concentração de PB nas rações, no qual o tratamento contendo 50% de inclusão de PB produziu 21,9 % mais larvas (226.318) do que o tratamento contendo 32% de PB (32 A; 185.573). Esses cálculos podem ser de interesse das pisciculturas de reprodução comercial, como o local onde foi localizado este experimento de modo que, o tratamento contendo 44% de PB apresentou uma sobrevivência 16,4% superior em relação ao tratamento contendo 32% de PB (32 A).

Porém, foram encontradas diferenças significativas quanto ao comprimento total das larvas de tilápia à medida que se aumentou a taxa de inclusão de PB nas dietas. Resultados semelhantes aos descritos por El-Sayed & Kawanna (2008), onde o crescimento das larvas de tilápia aumentou de $8.1 \pm 0,17$ a $12.5 \pm 0,39$, com acréscimo de proteína e energia nas dietas ofertadas aos reprodutores.

A ingestão de proteínas é necessária para atender as exigências do animal, uma vez que, aminoácidos são utilizados continuamente para a construção de novas proteínas, durante o crescimento e reprodução e para substituir as proteínas existentes para manutenção (Furuya, 2010).

Dentre as proteínas encontram-se os hormônios, fundamentais ao processo reprodutivo, como as gonadotrofinas que atuam nas células somáticas testiculares, principais reguladores das células de Leydig, envolvidas na esteroidogênese e da célula de Sertoli, responsáveis pelo suporte nutricional, estrutural e regulatório das células germinativas (Schulz et al., 2010). A fim de observar possíveis alterações em relação aos machos de tilápia-do-nilo durante o experimento, tendo em vista o importante papel das proteínas em seu desempenho reprodutivo, estes foram avaliados no início, meio e fim dos estudos.

Observou-se que, a partir do momento inicial até os 90 dias de experimento, os parâmetros motilidade (MOT), velocidade média do deslocamento (VAP), velocidade em linha reta (VLR) e velocidade curvilínea (VCL) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, nos momentos 10, 30 e 60 segundos de ativação dos gametas (10s, 30s e 60s). Resultados estes, semelhantes ao observado por Oliveira et al., (2015) que não verificaram efeito dos níveis de 32, 34, 36, 38 e 40 % de PB nas dietas para os valores das taxas de motilidade e a duração de motilidade espermática.

Contudo após 210 dias de experimento, as variáveis de VAP e VSL foram significativamente menores ($p < 0,05$) nos tratamentos contendo 38% de inclusão de PB aos 10s. Já aos 30s os melhores valores ($p < 0,05$) de VAP, VSL e VCL foram encontrados no tratamento com 44 % de PB e os piores valores com 36% de PB, para ambos a MOT não apresentou diferença significativa. Entretanto com 60s de ativação a MOT, VAP e VSL foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nos tratamentos com 44% de PB e piores nos com 36 % de PB e para ambos, a VCL não apresentou diferença.

Observando os resultados, presume-se que dietas contendo 44% de PB são vantajosas ao desempenho reprodutivo dos machos de tilápia-do-nilo, todavia, desde 2001, Izquierdo et al., (2001) preconizaram a necessidade de estudar as características seminais e espermáticas dos peixes uma vez que estas variam com o estado nutricional dos peixes.

A sanidade dos reprodutores reflete diretamente no sucesso do processo reprodutivo e da prole. Uma das ferramentas utilizadas para esta avaliação são as análises hematológicas, com elas observam-se as funções orgânicas dos peixes, a existência de doenças e respostas imunológicas das células frente a desafios patogênicos ou nutricionais.

Neste estudo as concentrações de eritrócitos, hematócritos e hemoglobina foram observadas, todavia estas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), corroborando aos descritos por Oliveira et al., (2014) que avaliaram diferentes níveis de proteína em rações para tilápias.

Em relação aos valores de VCM e CHCM, estes também não foram afetados significativamente pelas diferentes dietas ofertadas, assim como, os números totais de trombócitos e leucócito, estes, considerados indicadores sanitários, apresentaram número de células aceitáveis, comparadas aos resultados obtidos por Telli et al. (2014).

Os resultados apresentados pela análise econômica realizada ao final do experimento demonstram que a utilização de elevada inclusão de PB pode ser viável economicamente. Contudo, a lucratividade apresentada pode não ser considerada vantajosa no tratamento contendo 50% de proteína bruta, se for levado em conta, o maior aporte de nutrientes nos tanques, aumentando os compostos nitrogenados e afetando a qualidade da água, os resultados negativos no desempenho reprodutivo dos machos utilizados no trabalho, além de questões técnicas relacionadas ao processamento e extrusão destas rações. A partir deste princípio, podemos observar que os tratamentos contendo 38 e 44% de PB, apresentam resultados mais interessantes, oferecem desempenho reprodutivo satisfatório e geram lucros, sobrecarregando menos o sistema de criação.

Diante do exposto conclui-se: não foram encontradas melhoras significativas no desempenho reprodutivo das fêmeas, porém, valores satisfatórios ao sucesso da produção em escala comercial ficaram evidenciados. Ainda assim, avaliando o desempenho dos machos, o crescimento e os índices de sobrevivência significativo das larvas e a lucratividade observada pelas análises econômicas, propõe-se a utilização de dietas contendo 44% de PB em rações para matrizes de tilápia-do-nilo.

7. Agradecimentos

Os autores são gratos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (nº 2013/24474-1) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes. Também agradecem a piscicultura Peixe Vivo Aquacultura®-Santa Fé do Sul-SP e seus colaboradores.

8. Referências

- Al-Hafedh, Y. S., 1999. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 30, 385-393.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1980. Official Methods of Analysis. 14th ed., Washington, EUA, 1018 pp. AOAC, Arlington.
- Ayroza, L.M.S., Romagosa, E., Ayroza, D.M.M.R., Scorvo Filho, J.D., Salles, F.A., 2011. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 40(2): 231-239.
- Coward, K. and Bromage, N. R., 1999. Spawning frequency, fecundity, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first feeding to sexual maturity. *Aquatic Living Resources* 12, 11-22.
- Coward, K., Bromage, N.R., 2000. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Fish Biology* 10, 1-25.
- Da Silva, S. S., Nguyen, T. T. T., Ingram, B. A., 2008. Fish reproduction in relation to aquaculture. p. 535-575. In: *Fish Reproduction*. Rocha, M. J.; Arukwe, A. and Kapoor, B. G., ed. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
- El-Sayed, A.-F.M., Kawanna, 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture* 80, 179-184.
- El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R., Ezzat, A.A., 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 220, 619-632.
- Furuya, W. M., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. 1^o Ed. Toledo: GFM, 100 p.
- Furuya, W.M., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Cyrino, J.E.P., 2013. Exigências nutricionais e Alimentação da tilápia. In: Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. (Eds), *Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Editora Copiart Ltda, Florianópolis, Santa Catarina, pp.167-179.
- Goldenfarb, L.M., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. Journal of Clinical Pathology* 56 (1), 35-39.

- Gunasekera, R.M., Shim, K.F., Lam, T.J., 1996. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 146, 245–259.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Falacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25–42.
- Lupatsch, I., Deshev R., Magen, I., 2010. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 41, 763-769.
- Martin, N.B., Serra, R., Antunes, J.F.G., Oliveira, M.D.M., Okawa, H., 1994. Sistema de custo de produção agrícola. *Informações Econômicas* 24, 97-122.
- Matsunaga, M.; Bemelmans, P.F.; Toledo, P.E.N.; Dulley, R.D.; Okawa, H.; PEDROSO, I.A., 1976. Metodologia de custo de produção utilizado pelo IEA. *Agricultura em São Paulo* 23: 123-139.
- National Research Council – NRC. Nutrient Requirement of Fish and Shrimp. Washington: National Academy Press, 2011. 115 p.
- Navarro, R.D., Navarro, F.K.S., Felizardo, V.O., Murgas, L.D.S., Pereira, M.M., 2014. Cryopreservation of semen of Thailand tilapia (*Oreochromis* spp.) fed diet with different oil sources. *Acta Scientiarum Technology* 36 (3), 399-404.
- Ng, W.K., Romano, N., 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Review in Aquaculture* 4, 1-35.
- Ng, W.K., Wang Y., 2011. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or lin seed oil. *Aquaculture* 314, 122–131.
- Oliveira, M. M., Ferreira, M. R., Goulart, M. B., Felizardo, V. O., Murgas, L. D. S., Andrade, E. S., Allaman, I. B., Veras, G. C., Costa, D. V., Rosa, P. V., 2015. Effect crude protein levels on the broodstock spermatid quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *American Journal of Experimental Agriculture* 5 (3), 192-199.
- Oliveira, M.M., Ribeiro, T., Orlando, T. M., Oliveira, D.G.S., Drumond, M.M., Freitas, R. T. F., Rosa, P.V., 2014. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 150, 62-69.
- Rana, K. J. 1990. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry: I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture* 87, 165-181.

- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. 1ª ed., Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. 135 p.
- Rosenfeld, G., 1947. Corante pancrônico para hematologia e citologia clínica. Nova constituição dos componentes do May Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. Memórias do Instituto Butantã 20: 329-334.
- Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Marcos, R. M., Neumann, G., Toledo, C. P. R., Romagosa, E., 2010. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. Aquaculture Research 42, 153-156.
- Sanches, E. A., Marcos, R. M., Okawara, R. Y., Caneppele, D., Bombardelli, R. A., Romagosa, E., 2013. Sperm motility parameters for *Steindachneridion parahybae* based on open-source software. Journal of Applied Ichthyology. 29, 1114-1122.
- Schulz RW, França LR, Lareyre JJ, LeGac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega RH, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. General and Comparative Endocrinology, 165, p.390-411.
- Siddiqui A.Q., Al-Harbi A.H., Al-Hafedh Y.S., 1997. Effects of food supply on size at first maturity, fecundity and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) *Oreochromis aureus* (Steindachner), in outdoor concrete tanks in Saudi Arabia. Aquaculture Research 28, 341–349.
- Siddiqui, A.Q., Al-Hafedh, Y.S., Ali, S.A., 1998. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research 29, 349 – 358.
- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., Dias, D.C., Sussel, F.R, Ishikawa, C.M., Tachibana, L. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile *Oreochromis niloticus* raised at a different stocking densities. Fish & Shellfish Immunology 39, 305-311.
- Trewavas, E., 1983. Tilapiine Fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum (Natural History). London, 583 p.
- Vazzoler, A.E.A.M. 1996. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, São Paulo, Sociedade Brasileira de Ictiologia, 196p.
- Washburn, B., S., Frye, D., J., Hung, S., S., O., Doroshov, S., I., Conte, F., S., 1990. Dietary effects on tissue composition, oogenesis and reproductive performance of female rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*. Aquaculture 90, 179-195.

- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2006. Manual for CASA aplicativo for Image J.
Avaliable in: <<<http://rsbweb.nih.gov/ij/aplicativos/docs/CASAINSTRUCTIONS.pdf>>>
Access in Sept, 14, 2009.
- Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2007. Development of a novel CASA system based
on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters.
Theriogenology 67, 661-672.

9. Perspectivas Futuras

Diante do que foi observado durante a execução destes experimentos e analisando os resultados obtidos em ambos os manuscritos (Artigos 1 e 2), algumas ponderações e avaliações foram realizadas a fim de que futuras pesquisas e trabalhos possam vir a ser propostos.

Uma das linhas de pesquisa que poderiam ser conduzidas é com relação às larvas obtidas nestes experimentos, de modo a avaliar os efeitos das dietas das matrizes no desempenho zootécnico e principalmente reprodutivo da prole (F1). Esta melhor condição das larvas provindas de matrizes alimentadas com altos níveis proteicos é uma característica que sobressairá em todas as fases do desenvolvimento?

Outro ponto que merece destaque é o efeito das dietas no desempenho reprodutivo das matrizes, que atuou de maneira diferente entre os sexos. Estudos sobre a formulação de rações deveriam ser direcionados separadamente para machos e fêmeas? E como realizar esta alimentação nos atuais métodos de manejo da maioria das pisciculturas, onde ambos são mantidos juntos? O quanto isso é viável biologicamente e economicamente?

É fato que o resultado econômico positivo precisa aparecer quando se trata de pisciculturas comerciais, porém, o balanço entre o lucro e o bem-estar animal precisa existir para que o ganho seja real a longo prazo e, por isso, a importância de novas pesquisas nesta área.