



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
IBB- INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Atuação dos ácidos graxos poli-insaturados no desenvolvimento  
ovariano de *Gymnocorymbus ternetzi* (Characiformes:  
Characidae)**

**Laís Pedroso Borges**

Botucatu- SP

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
IBB- INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Atuação dos ácidos graxos poli-insaturados no desenvolvimento  
ovariano de *Gymnocorymbus ternetzi* (Characiformes:  
Characidae)**

**Laís Pedroso Borges**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) – Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre.

Botucatu- SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Borges, Laís Pedroso.

Atuação dos ácidos graxos poli-insaturados no desenvolvimento ovariano de *Gymnocorymbus ternetzi* (Characiformes: Characidae) / Laís Pedroso Borges. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira

Capes: 20400004

1. Peixe - Reprodução. 2. Ácidos graxos. 3. Oogênese.

Palavras-chave: Ácido graxo essencial; *Gymnocorymbus ternetzi*; Oogênese; Reprodução.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LAÍS PEDROSO BORGES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 26 dias do mês de julho do ano de 2019, às 08:30 horas, no(a) Departamento de Biologia e Zootecnia - FEIS - Ilha Solteira-SP, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA - Orientador(a) do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Profa. Dra. CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/ FEIS - UNESP, Profa. Dra. RENATA ALARI CHEDID do(a) Departamento de Ciências Básicas / Faculdade Educacional de Andradina - FEA, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LAÍS PEDROSO BORGES, intitulada **Atuação dos ácidos graxos poli-insaturados no desenvolvimento ovariano de *Gymnocorymbus ternetzi* (Characiformes: Characidae)**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: 1 --- --- --- ---. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA



Profa. Dra. CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO



Profa. Dra. RENATA ALARI CHEDID



*Dedico este trabalho aos meus pais, Manoel Custódio Borges e Lucimar Pedroso Borges, que sempre me ampararam e não mediram esforços para que eu continuasse. Obrigada pelas orações, apoio, amor, carinho e dedicação.*

## AGRADECIMENTOS

O ato de agradecer é sempre injusto, pois corre-se o risco do esquecimento de pessoas que contribuíram significativamente para a conclusão dessa importante etapa de minha vida. Por isso, agradeço a todos que cooperaram, direta ou indiretamente, para que tudo fosse possível.

Agradeço a **Deus** por consentir-me o fôlego da vida, por permitir que tudo isso se tornasse possível. Sua benevolência deu-me saúde, sabedoria, paciência, fé e força.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira**, pela calma em suas correções, apoio e incentivo, pela amizade, eficiência e confiança. Por me permitir compartilhar momentos de alegria e choro, e também membro da família **L.I.NEO**. Obrigada por ser parte fundamental da minha vida e por ser muito mais do que um orientador!

Aos meus pais, **Manoel** e **Lucimar**, pela perseverança incondicional que me fortaleceu nas horas mais difíceis de desânimo e cansaço, pois acalentaram o meu pranto nos momentos de desespero e angústia, dizendo: “Vai dar tudo certo!”, a vocês todo meu amor!

A minha irmãos, **Gislane** e **Samuel**, pelo amor incondicional, amizade e confiança!

Ao meu namorado e melhor amigo, **Caio Padilha**, obrigada por todo amor, carinho, atenção e apoio. Por ser compreensivo, paciente e perseverante comigo, por todo o momento desta fase escrita, no qual tornou mais leve. Te amo!!

Aos meus amigos equilibristas, em especial **Diego, Amanda, e João** que no decorrer de quase um ano, me motivaram, me fizeram sorrir, e não permitiram me abater perante as situações de desespero e que comemoram comigo cada etapa alcançada.

Aos meus companheiros da **Rep. Ibiza**, **CRYSTAL**, **IGOR** e **GIOVANA**, agradeço pela convivência diária, por cada “xiuuuuu, faz silêncio que a ADE está dormindo”, pelas melhores playlists já ouvidas, e pelos bons momentos vividos.

Aos professores da banca de qualificação, **Prof. Dr. José Augusto Senhorini** e **Prof. Dr<sup>a</sup>. Cristiéle da Silva Ribeiro**, que contribuíram para o aperfeiçoamento do meu trabalho.

Aos membros da banca de defesa, **Prof. Dr<sup>a</sup>. Cristiéle da Silva Ribeiro** e a **Prof. Dr<sup>a</sup> Renata Alari Chedid**, por aceitarem o convite e poderem contribuir com meu trabalho.

A **Prof. Dr<sup>a</sup>, Rosicleire Veríssimo Silveira**, por cada ensinamento, conversa e amizade.

Ao **Laboratório de Bromatologia** e auxílio do **Técnico Sidival** nas análises bromatológicas.

A Professora **Dr<sup>a</sup>. Cristiéle da Silva Ribeiro**, por me ceder o Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA), para o processamento das amostras para análises lipídicas e auxílio nas dúvidas das mesmas e pela amizade que construímos ao longo do tempo

A Professora **Dr<sup>a</sup>. Renata Guimarães Moreira** por abrir as portas do Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA), para que as análises lipídicas fossem realizadas.

Aos meus companheiros do **Laboratório de Ictiologia Neotropical**, por ensinar e ajudar em cada procedimento realizado e pelos risos em meu dia. Sem vocês este trabalho não teria acontecido. Um agradecimento especial a Cristiane Bashiyó, Laícia, Yasmim, Patrícia, e Cristiane Benevente, pela disponibilidade e auxílio nas coletas. A Malbellys a cubana mais cheirosa que já conheci, a Maria Luza por me proporcionar risadas infinitas toda manhã e também pela ajuda nas análises de ácidos graxos e a Évillyn Zacheo por sua imensa sabedoria divina

Ao casal **Renata Chedid e Ricardo Mori**, por sempre estarem dispostos a ajudar, ensinar, obrigada pela amizade!

A **Cristiane Bashiyó Silva**, pelo empenho e auxílio em minhas dúvidas, por cada palavra de apoio para levantar minha autoestima, pelos puxões de orelha. A você, o meu muito obrigada!

Ao meu amigo **Fabício Marçal**, que mesmo longe me auxiliou e também foi fundamental para que eu concluísse essa etapa.

As minhas maravilhosas amigas **Pati Postingel, Cris Benevente e Maria Luiza Delgado**, por serem inspiração para mim, tal qual na sua forma, mais essencial para mim!

A **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, por todo o aparato.

Ao **CNPq**- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – pela bolsa de estudos concedida;

A **Seção de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu**, pela ajuda, eficiência e auxílio durante cumprimento de normas e regulamentos do programa.

Aos **funcionários do Departamento de Biologia e Zootecnia**, pela ajuda, conversas convivência e apoio. Em especial a Meire, pela sua eficiência e disposição, a Vera e Junior pelo auxílio e amizade e a Luzinete pelo carinho, atenção e cuidado com a limpeza e deliciosas comidas realizadas na copa do departamento.

A todos, meu muito OBRIGADA!!



***POSSO TODAS AS COISAS NAQUELE QUE ME FORTALECE!!***

**Filipenses 3:13**

## RESUMO

Os peixes durante o período reprodutivo, mobilizam grande parte de suas reservas energéticas para o processo de maturação dos oócitos, por isso quando em cativeiro, é necessário o fornecimento de uma dieta nutricionalmente adequada, com cuidado com o manejo alimentar e a escolha da ração, aonde os reprodutores devem receber uma dieta com componentes de alta qualidade e digestibilidade. O objetivo foi verificar se a adição de 5% de óleo de peixe marinho a dieta *Gymnocorymbus ternetzi* promoverá uma incorporação de ácidos graxos essenciais no tecido ovariano e possível alteração no desenvolvimento gonadal. Para tal, foram estabelecidos dois sistemas compostos com espécimes adultos de *G. ternetzi*, sendo um denominado grupo controle - GC, em que os animais foram alimentados com ração comercial e o outro grupo óleo - GO que foram alimentados com a mesma ração com adição de 5% de óleo de peixe marinho, por um período de 12 meses. Mensalmente, foram realizadas coletas do tecido hepático e gonadal de fêmeas de *G. ternetzi*, para determinação dos índices hepatossomático (IHS) e gonadossomático (IGS), para quantificação e determinação do tamanho dos oócitos, para análise das fases reprodutivas e determinação quanto ao perfil dos ácidos graxos. Os dados de biometria dos animais, não diferiram estatisticamente entre os grupos testados. A determinação dos ácidos graxos dos tecidos hepático e gonadal, apresentou valores constantes e similares de ácidos graxos poli-insaturados - família ômega 3 (PUFAs n3) para ambos os grupos. O índice gonadossomático (IGS) não diferiu estatisticamente entre os grupos, mas o índice hepatossomático (IHS), nos meses de abril/2018 (GO-  $1,06 \pm 0,25\%$ ; GC-  $0,77 \pm 0,17\%$ ) e outubro /2018 (GO-  $1,15 \pm 0,29\%$ ; GC-  $0,73 \pm 0,28\%$ ) diferiram estatisticamente ( $p \geq 0,05$ ) para GO e dezembro/2017 (GC-  $1,30 \pm 0,17\%$ ; GO-  $0,80 \pm 0,36\%$ ) com ( $p \geq 0,05$ ) para GC. *G. ternetzi* manteve-se na fase de apto a desova, subfase de desova ativa, por todo o período de coleta em ambos os grupos. Quanto a análise estereológica, o GO teve um aumento significativo ( $p \geq 0,05$ ), quanto ao percentual de oócitos maduros nos meses de dezembro/2017 (GC- 3,95%; GO - 6,90%), março/2018 (GC- 4,18% ; GO- 6,07%) e junho/2018 (GC- 3,93%; GO- 5,63%) e de oócitos atresícos em junho/2018 ( GC- 3,27%; GO- 4,68%). Com relação a área dos oócitos em vitelogênese final (Vtg3) ou dos oócitos maduros, GO apresentou a área maior ( $p \geq 0,05$ ), nos meses de março/2018 (GC- 333069,37  $\mu\text{m}^2$ ; GO- 960478,45  $\mu\text{m}^2$ ), junho/2018 (GC- 327197,86  $\mu\text{m}^2$ ; GO- 1262535,47  $\mu\text{m}^2$ ) e outubro/2018 ( GC- 315383,10  $\mu\text{m}^2$ ; GO- 1253784,697  $\mu\text{m}^2$ ). Portanto, infere-se que a suplementação de PUFAs n3 na dieta de *G. ternetzi*, levou a alteração no desenvolvimento gonadal da espécie, principalmente na maturação final dos oócitos.

**Palavras-chave:** reprodução, morfologia, tetra negro, ácidos graxos essenciais.

## ABSTRACT

Fish during the reproductive period mobilize most of their energy reserves for the oocyte maturation process, so when in captivity, it is necessary to provide a nutritionally adequate diet, careful with food management and choice of feed, where breeders should receive a diet with high quality components and digestibility. The objective was to verify if the addition of 5% of marine fish oil to the *Gymnocorymbus ternetzi* diet will promote the incorporation of essential fatty acids in the ovarian tissue and possible alteration in gonadal development. For this purpose, two composite systems were established with adult *G. ternetzi* specimens, one called control group - GC, in which the animals were fed with commercial feed and the other oil - GO group that were fed with the same feed with the addition of 5% marine fish oil for a period of 12 months. The liver and gonadal tissue were collected monthly from *G. ternetzi* females to determine hepatosomatic (IHS) and gonadosomatic indices (IGS), to quantify and determine oocyte size, to analyze the reproductive phases and to determine the profile. of fatty acids. Animal biometrics data did not differ statistically between the groups tested. The determination of fatty acids from hepatic and gonadal tissues presented constant and similar values of polyunsaturated fatty acids - omega 3 family (PUFAs n3) for both groups. The gonadosomatic index (IGS) did not differ statistically between the groups, but the hepatosomatic index (IHS), in April / 2018 (GO-1.06 ± 0.25%; GC- 0.77 ± 0.17%). and October / 2018 (GO- 1.15 ± 0.29%; GC- 0.73 ± 0.28%) differed statistically ( $p \geq 0.05$ ) for GO and December / 2017 (GC- 1.30 ± 0.17%; GO-0.80 ± 0.36%) with ( $p \geq 0.05$ ) for CG. *G.ternetzi* remained in the spawning-fit phase, active spawning sub-phase, throughout the collection period in both groups. Regarding the stereological analysis, the GO had a significant increase ( $p \geq 0.05$ ), regarding the percentage of mature oocytes in the months of December / 2017 (GC- 3.95%; GO - 6.90%), March / 2018. (GC 4.18%; GO 6.07%) and June 2018 (GC 3.93%; GO 5.63%) and of atresic oocytes in June 2018 (GC 3.27%; GO- 4.68%). Regarding the area of final vitellogenesis oocytes (Vtg3) or mature oocytes, GO presented the largest area ( $p \geq 0.05$ ) in March / 2018 (GC-333069.37  $\mu\text{m}^2$ ; GO-960478.45  $\mu\text{m}^2$ ). , June / 2018 (GC- 327197.86  $\mu\text{m}$ ; GO-1262535.47  $\mu\text{m}$ ) and October / 2018 (GC- 315383.10  $\mu\text{m}$ ; GO-1253784.69  $\mu\text{m}$ ). Therefore, it can be inferred that the supplementation of PU3s n3 in the diet of *G. ternetzi* led to alteration in the gonadal development of the species, especially in the final maturation of oocytes.

Keywords: reproduction, morphology, black tetra, essential fatty acids.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 Geral.....	17
2.2 Específicos .....	17
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
3.1 Delineamento experimental.....	18
3.2 Coletas.....	20
3.3 Análise Morfológica.....	21
3.4 Análise do perfil de ácidos graxos .....	22
3.5 Análise estatística.....	23
3.6 Comitê de ética.....	23
<b>4- RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
4.1 Perfil dos ácidos graxos teciduais.....	24
4.2 Análises dos Índices Gonadossomático e Hepatossomático.....	28
4.3- Análise Morfológica.....	30
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A reprodução na maioria dos peixes é cíclica e sazonal, apresentando uma variedade de estratégias reprodutivas, que permite sua adaptação em diferentes ambientes, nos quais as condições bióticas (disponibilidade de alimento e pressão de predação) e abióticas (temperatura, fotoperíodo e oxigênio) variam amplamente no espaço e no tempo. Esta adaptação reflete diretamente na morfo-fisiologia das gônadas de diferentes espécies, garantindo seu sucesso reprodutivo, que ocorre em função da variação das condições ambientais, onde o desenvolvimento gonadal inicia em uma época anterior aquela da reprodução, completando sua maturação no momento em que as condições ambientais forem adequadas à fecundação e desenvolvimento da prole (NAGAHAMA, 1983; VAZZOLER, 1996; GODINHO, 2007).

Segundo Ribeiro e Moreira (2012), os processos fisiológicos envolvidos na reprodução dos peixes incluem a diferenciação das gônadas, gametogênese, liberação de gametas, fertilização e eclosão das larvas. Sendo assim, o conhecimento das características morfológicas das gônadas constitui uma etapa básica e essencial para o entendimento da biologia reprodutiva das espécies, pois com a caracterização dos estágios do desenvolvimento oocitário é possível inferir sobre a fase do desenvolvimento gonadal, caracterizando o ciclo reprodutivo das espécies, servindo como base para constituir o estado funcional da gônada e o tipo de desova (SELMAN; WALLACE, 1989; LIMA et al., 1991; CREPALDI et al., 2006; QUAGIO-GRASSIOTO; WILDINER; ISHIBA, 2013; DOS SANTOS-SILVA et al., 2015).

O desenvolvimento gonadal pode ser analisado macroscopicamente com as alterações de forma, tamanho, cor e textura das gônadas e também pela análise microscópica que possibilita uma descrição mais detalhada das transições e modificações morfológicas (VAZZOLER, 1996; WALLACE; SELLMAN, 1981; CASSEL et al., 2017). Em fêmeas, o entendimento das características morfológicas dos oócitos é importante para a compreensão da dinâmica da gametogênese (TYLER e SUMPTER, 1996), no intuito de descrever e classificar as fases de desenvolvimento gonadal durante o ciclo reprodutivo e dos estágios do desenvolvimento oocitário dos peixes neotropicais. Brown-Peterson et al. (2011), desenvolveram uma terminologia para identificar as fases das gônadas dentro do ciclo reprodutivo, facilitando a comparação entre os estudos de biologia reprodutiva dos peixes, independentemente da posição filogenética, gênero ou estratégia reprodutiva. Estas fases constituem uma descrição morfológica dos eventos gonadais necessários para a produção e renovação dos gametas, como o desenvolvimento, diferenciação, maturação e liberação de

gametas viáveis (WILDNER; GRIER; QUAGIO-GRASSIOTO, 2012; QUAGIO-GRASSIOTO et al., 2011; DOS SANTOS-SILVA et al., 2015).

Em peixes, os ovários são envoltos por um tecido conjuntivo, denominado túnica albugínea, a qual emite septos para o interior do órgão, formando lamelas ovulíferas, que contêm oogônias e oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento. As oogônias são células iniciais do processo de foliculogênese, que se proliferam e dão origem aos ninhos de células germinativas, estas são individualizadas gradualmente pelas células somáticas epiteliais, as pré-foliculares, que envolvem as oogônias separando-as do ninho. As oogônias passam por várias divisões mitóticas para manter a população de células ou iniciam a fase de meiose formando oócitos em diferentes fases de prófase (FRANÇA; GRIER; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2010).

O crescimento do oócito pode ser classificado em pré-vitelogênico ou crescimento primário e crescimento secundário, conhecido como vitelogênese. No início do crescimento primário, as células foliculares são adjacentes ao oócito, seguindo da camada basal e a teca, uma camada vascularizada (SELMAN; WALLACE, 1989; GUIMARÃES; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2001; QUAGIO-GRASSIOTTO; GUIMARÃES, 2003). No crescimento secundário ocorre a deposição de grânulos de vitelo no citoplasma e o espessamento da zona radiata (PATIÑO; SULLIVAN, 2002; GONÇALVES; BAZOLLI; BRITO, 2006; MARTINS et al., 2010; DOS SANTOS-SILVA et al., 2015). Durante a maturação do oócito, o núcleo migra para o pólo animal onde está localizada a micrópila (FRANÇA; GRIER; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2010). A ovulação é o estágio em que o oócito é liberado para o lúmen ovariano para posterior fertilização, restando no ovário os folículos pós-ovulatórios (FRANÇA; GRIER; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2010; QUAGIO-GRASSIOTTO et al., 2011).

Durante o desenvolvimento do oócito ocorre a vitelogênese, nessa etapa acontece o aumento do volume do oócito pelo sequestro e incorporação da vitelogenina, uma glicolipofosfoproteína precursora de vitelo. Este crescimento oocitário é mediado pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e sob sua ação no esteroide sexual estradiol (E2) sintetizado pelas células foliculares ovarianas. O E2 nesta fase quando carregado pela corrente sanguínea até o fígado, estimula a síntese e secreção de vitelogenina pelos hepatócitos. A vitelogenina então é carregada pela corrente sanguínea aos ovários, sendo incorporada pelos oócitos e formando o vitelo elemento fundamental para o crescimento destes. Após a fecundação, o vitelo vai servir como aporte nutricional para o desenvolvimento embrionário e larval. Assim, um processo de vitelogênese bem desenvolvido é de suma importância no sucesso da reprodução e geração de proles viáveis (NAGAHAMA et al, 1993, MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010; ALMEIDA, 2013; BALDISSEROTO, 2013). Para o processo da

maturação ovariana, é necessária uma grande disponibilidade de macro e micronutrientes, para o acúmulo de uma grande reserva energética, que será transferida aos seus oócitos e assim completarem sua maturação (CEJAS et al., 2004).

Para mobilizarem uma grande parte de suas reservas energéticas para o processo de maturação dos oócitos, quando em cativeiro, é necessário o fornecimento de uma dieta nutricionalmente adequada para os peixes, por isso o cuidado com o manejo alimentar e a escolha da ração é de grande importância na alimentação dos reprodutores, visto que a alimentação é feita quase que somente com rações para peixes de corte. Apesar de existir uma grande preocupação com as exigências nutricionais para os peixes, alguns nutrientes como ácidos graxos, vitaminas e minerais, devem adicionados a ração visto que para espécies de peixes ornamentais a exigência destes nutrientes pode ser maior (ZUANON; SALARO e FURUYA) Existem alternativas para aumentar e melhorar a qualidade da ração, como a adição de componentes com alto conteúdo calórico, que contenham em sua composição grande concentração de ácidos graxos essenciais, como por exemplo, os lipídios provenientes de gorduras animais e óleos vegetais (RIBEIRO et al., 2012).

Os lipídeos ou ácidos graxos absorvidos durante a dieta podem ser metabolizados pelo organismo como fonte energética, na forma de triglicerídeos ou transferidos para a membrana como fosfolipídeos, dependendo da necessidade do peixe (ADAMS, 1999). Como os demais vertebrados, os peixes de água doce não possuem as enzimas dessaturases  $\Delta 12$  e  $\Delta 15$ , assim não conseguem realizar a síntese de ácidos graxos insaturados (linoléico - LA, C18:2n-6 e linolênico LNA, C18:3n-3), devendo ser incluídos na dieta dos reprodutores uma vez que estes não são metabolizados, evitando deficiências nutricionais (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; PÉRIZ, 2009).

Os ácidos graxos linoléico (ômega6 ou n-6) e linolênico (ômega3 ou n-3) são essenciais para funções celulares normais, e atuam como precursores para a síntese de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa como os ácidos araquidônicos (AA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), sendo o EPA e o DHA ácidos graxo altamente insaturados (HUFA). Estes desempenham função energética, metabólica, estrutural e hormonal. Neste sentido, um dos componentes lipídicos de alta qualidade contendo ácidos graxos poli-insaturados da família ômega 3 que podem ser adicionadas durante a formulação das rações, é o óleo de peixe marinho.

Os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), são considerados imprescindíveis na formação de oócitos viáveis e simétricos e os mesmos podem atuar na composição dos fosfolipídios presentes na membrana, auxiliando na manutenção e na fluidez desta e em

atividades como, crescimento e reprodução (desenvolvimento gonadal e produção de hormônios gonadotrópicos) (IZQUIERDO; FERNÁNDEZ-PALACIOS; TACON, 2001, KATES; MOLDOVEANU; STEWART, 1993; SARGENT; TOCHER; BELL, 2002), atuando na composição do vitelo e na formação estrutural do embrião (WILSON, 1995) garantindo o sucesso da reprodução.

Costa, et al., (2018) e Bashio - Silva (2018), colaboradores do grupo de pesquisa no qual esse trabalho foi desenvolvido, testaram a incorporação de ácidos graxos em dietas de reprodutores. Costa, et al., (2018) , mostrou que o fornecimento de óleo de peixe marinho (ácidos graxos poli-insaturados) na dieta de reprodutores de *Prochilodus lineatus*, possibilitou a transferência dos ácidos graxos essenciais nas gônadas e na membrana do embriões produzidos por *P. lineatus*, em que os embriões produzidos obtiveram uma maior plasticidade, suportando maiores tensões e que suas células ficaram mais permeáveis, o que permitiria um aperfeiçoamento no método de criopreservação para a espécie. Bashio - Silva (2018), utilizando uma dieta rica em ácidos graxos poli-insaturados para reprodutores de *Astyanax altiparanae*, demonstrara que os PUFAs na dieta esta ligada a maturação ovariana e que os ácidos graxos são armazenados no fígado, mobilizados para o ovário e permanecem nos embriões advindos de fêmeas com dieta rica em ômega 3.

Entretanto, não há estudos histológicos dos ovários que demonstrem que o acréscimo de ácidos graxos poli-insaturados na dieta, altera morfológicamente a estrutura ovariana. Além disso a análise microscópica do ovário elucidada o ciclo reprodutivo das espécies. Deste modo, a qualidade dos componentes das rações é essencial para que desenvolvimento normal e adequado aos organismos, garantindo não só o crescimento, mas a produção de células germinativas de boa qualidade, que darão origem aos embriões e larvas bem desenvolvidas.

Levando em consideração a importância da nutrição no desenvolvimento ovariano e na fisiologia reprodutiva de peixes de água doce, o modelo biológico deste trabalho foi a espécie *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger, 1895), (Characiformes: Characidae: Stethaprioninae), comumente conhecido como Tetra Negro ou Black Tetra. Originários das Bacias dos rios Paraguai e Guaporé (Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai), onde a temperatura de conforto da água variam de 20 a 27°C, trata-se de um peixe bastante ágil, de comportamento pacífico e atrativo pela sua coloração. Tem como habito alimentar onívoro, com preferência para vermes e pequenos crustáceos. É de fácil criação por serem poucos exigentes quanto a sua manutenção (LIMA et al., 2003 FRANKEL 2004; UMA e CHANDRAN, 2008). Cabe destacar também, que *G. ternetzi* apresenta de grande importância no comércio de peixes ornamentais



(aquariofilia), tanto a nível nacional, quanto mundial, considerada sua produção é considerada um agronegócio rentável (ROBINS et al., 1991; RIBEIRO, 2008).

Dentre as pesquisas já realizadas com a espécie podemos citar: Morfologia testicular e a estrutura da espermatogênese (MOJICA, 2007); Desenvolvimento embrionário e larval (ÇELIK et al., 2011); Comparação morfológica do trato alimentar e do fígado, para fins filogenéticos (ALONSO, MIRANDE, PANDOLFI, 2015); Revisão da taxonomia e filogenia molecular (BENINE et. al., 2015); Indução e sobrevivência de clones androgênicos, desempenho reprodutivo e testes de progênies de clones androgênicos, com sêmen criopreservado (DAVID, 2016 a, 2016 b); Estabelecimento da membrana basal no epitélio germinativo durante a diferenciação gonadal e presença, localização e morfologia dos telócitos durante o desenvolvimento gonadal (MAZZONI; GRIER; QUAGIO-GRASSIOTO, 2015; MAZZONI; VIADANNA; QUAGIO-GRASSIOTO, 2019). Portanto para seu cultivo em cativeiro, como para qualquer espécie animal, há a necessidade de conhecimento de suas necessidades nutricionais, como também de sua biologia reprodutiva, nas quais informações científicas sobre estes aspectos são escassas ou inexistentes

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Verificar se a adição de 5% de óleo de peixe marinho a dieta *Gymnocorymbus ternetzi* promoverá uma incorporação de ácidos graxos essenciais no tecido ovariano e possível alteração no desenvolvimento gonadal.

### 2.2 Específicos

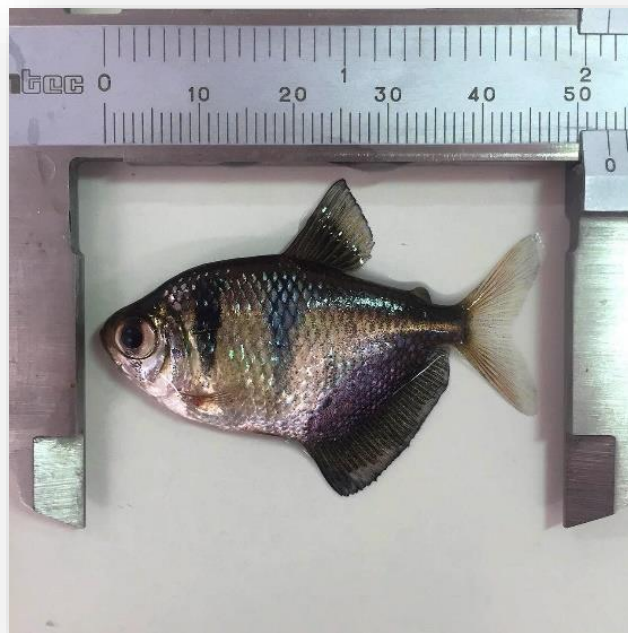
- Avaliar pela análise do perfil dos ácidos graxos se haverá incorporação de ácidos graxos essenciais (AGE) nos tecidos hepático e ovariano pela suplementação nutricional de 5% de óleo de peixe marinho na dieta *Gymnocorymbus ternetzi*;
- Avaliar a suplementação com óleo de peixe marinho ocasiona alterações dos índices hepatossomático e gonadossomático;
- Avaliar a morfologia do desenvolvimento ovariano, com a suplementação com 5% de óleo de peixe marinho na dieta *G. ternetzi*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Delineamento experimental

Para realização do experimento foram utilizados 600 espécimes adultos de machos e fêmeas de *Gymnocorymbus ternetzi*, com comprimento  $6,0 \pm 0,24$ cm e massa de  $2,45 \pm 0,22$ g, (Fig.1) provenientes de um viveiro de peixes ornamentais localizado na cidade de Pereira Barreto, São Paulo. Os animais foram alocados nas dependências do Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), Departamento de Biologia e Zootecnia (DBZ), UNESP/FEIS, em dois conjuntos de 6 aquários de 45 L (50x30x30) dispostos em dois sistemas fechados com recirculação de água constante, com troca parcial (140 L) de água uma vez por semana. Os animais foram aclimatados por um período de 15 dias. Foi realizada biometria inicial dos espécimes para o cálculo da ração, que foi fornecida duas vezes ao dia (3% do peso vivo). A densidade foi de 50 animais por aquário, totalizando 300 animais por sistema, com um fotoperíodo de 12hs e temperatura média de  $28 \pm 1,57$  °C.

**Figura 1.** *Gymnocorymbus ternetzi*



**Fonte:** Delgado (2019)

Foram estabelecidos, **grupo controle - GC**, em que os animais foram alimentados com ração comercial (Tetra Color Bits<sup>®</sup>) e **grupo óleo - GO** que foram alimentados com a mesma ração adicionada com 5% do peso da ração com óleo de peixe marinho (Campestre Ind.

e Com. de Óleos Vegetais LTDA.<sup>®</sup>), com altas porcentagens de ácidos graxos altamente insaturados (DHA - ácido docosaenoico e EPA - ácido eicosapentaenoico). A análise da composição do óleo de peixe marinho está representada na Tabela 1 e a composição bromatológica da ração fornecida na dieta dos peixes na Tabela 2.

**Tabela 1.** Composição de ácidos graxos do óleo de peixe marinho adicionado a dieta administradas aos reprodutores de *Gymnocorymbus ternetzi*

Ácidos Graxos (%)	Óleo de Peixe
C16:0	18,22
C16:1	8,04
C18:0	3,81
C18:1	14,57
C18:2n6	13,15
C18:3n3	1,96
C18:4n3	1,97
C20:4n6	1,29
C20:5n3	17,96
C22:5n3	1,92
C22:6n3	9.49

**Fonte:** própria autora. **Ácidos graxos saturados (SAT):** C16:0 - ácido palmítico (PA), C18:0 - ácido esteárico (EA). **Ácidos graxos monoinsaturados (MUFA):** C16:1 - ácido palmitoleico (PLA), C18:1 - ácido oleico (OA). **Ácidos graxos poli-insaturados (PUFA): Família ômega 6 (PUFA n6):** C18:2n6 - ácido linoleico (LA) e C20:4n6 - ácido araquidônico (AA). **Família ômega 3 (PUFA n3):** C18:3n3 - ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA), C18:4n3 - ácido estearidônico (STD), C20:5n3 - ácido eicosapentaenóico (EPA), C22:5n3 - ácido docosapentaenóico (DPA), C22:6n3 - ácido docosahexaenóico (DHA). Dados obtidos pela porcentagem da matéria seca.

**Tabela 2.** Composição bromatológica das rações experimentais

	Grupo Controle	Grupo Óleo
Cinzas (%)	9.61	9.36
Extrato Etéreo (%)	6.91	10.19
Proteína Bruta (%)	52.45	50.51
Fibra Bruta (%)	0.29	1.84
Ômega 3 (%)	13.54	16.3

**Fonte:** Própria Autora. Análise bromatológica obtida pela porcentagem da matéria seca

A análise da quantidade de ômega 3 presente nas rações foi determinada no Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA), Departamento de Biologia e Zootecnia, FEIS/ UNESP e no Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA), USP/ Campus São Paulo e a análise bromatológica das rações foi realizada no Laboratório de Bromatologia, Departamento de Biologia e Zootecnia, FEIS/UNESP.

### 3.2 Coletas

A tabela 3 refere se ao cronograma das coletas realizadas A coleta zero foi realizada após aclimação dos peixes, mas antes de iniciarem a dieta e, as coletas posteriores, após um mês do início do fornecimento das dietas tratamento aos grupos de peixes.

**Tabela 3.** Cronograma de coletas para *Gymnocorymbus Ternetzi*.

	Meses												
	out/17	nov/17	dez/17	jan/18	fev/18	mar/18	abr/18	mai/18	jun/18	jul/18	ago/18	set/18	out/18
Coletas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

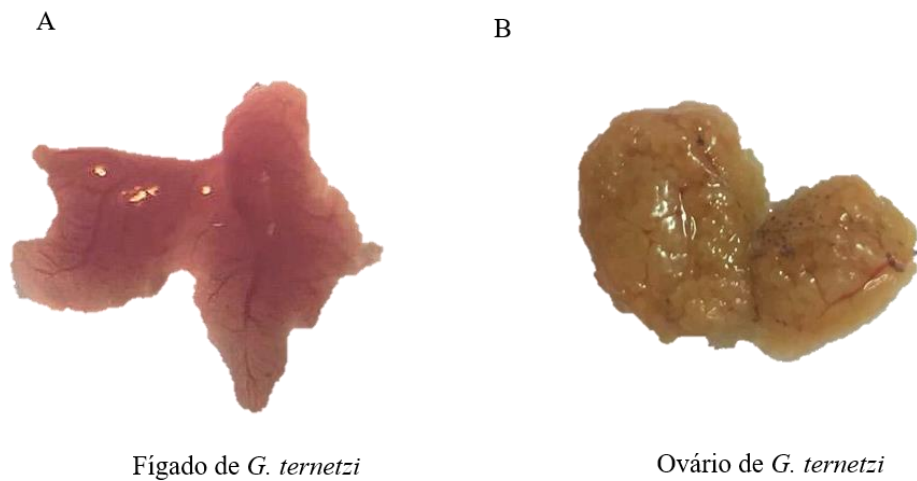
Fonte: Própria Autora

Mensalmente, por um período de 13 meses, foram coletadas 10 fêmeas do grupo controle e do grupo óleo. Após cada amostragem os animais foram eutanasiados por imersão em solução de benzocaína alcoólica (0,1 mg/ml). De cada espécime amostrado foi realizado a mensuração do comprimento total (cm) (CT) e da massa corpórea (g) (MC), com o uso de uma balança mecânica e um ictiômetro. Em seguida era realizada uma incisão na região ventral do animal, no sentido pósterio-anterior, expondo toda a cavidade abdominal para retirada do ovário e fígado (Figura 2A e B). Foi efetuada a mensuração da massa hepática (g) (MF) e a massa do ovário (g) (MG).

Para análise do perfil de ácidos graxos, uma porção de cada ovário e fígado amostrado foi armazenado em ultra- freezer à -80°C. A outra porção destes órgãos foi fixado em solução de Karnovsky modificada (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2%, em tampão fosfato Sorensen 0,1 M, pH 7,2) para análise histológica e determinação dos estágios e fases do ciclo reprodutivo. A partir dos valores da massa do ovário e do fígado, foram calculados os seguintes índices IGS e IHS segundo Vazzoler (1996):

- Índice hepatossomático (IHS)- determina a relação da massa do fígado em relação a massa corpórea do animal, a relação é expressa em porcentagem, dada pela seguinte fórmula:  $IHS = [(MF/MC) \times 100]$ .
- Índice Gonadossomático (IGS)- determina a relação da massa do ovário em relação a massa corpórea do animal, a relação é expressa em porcentagem, dada pela seguinte formula:  $IGS = [(MG/MC) \times 100]$ .

**Figura 2.** Ovário e fígado de *Gymnocorymbus ternetzi*



**Fonte:** Borges e Delgado (2019). **A.** Fígado de *G. ternetzi* e **B.** Ovário de *G. ternetzi*.

### 3.3 Análise Morfológica

Os ovários coletados, foram desidratados em série alcoólica crescente e incluídos em metacrilato glicol (Historesina Leica<sup>®</sup>). Para a confecção das lâminas histológicas, o material foi submetido a cortes de 3 $\mu$ m de espessura, obtidos em um micrótomo LEICA RM 2245<sup>®</sup>, equipado com navalha de vidro (0,8mm). Posteriormente, o material foi corado com as seguintes técnicas tintoriais: Hematoxilina / Eosina (H.E) e Azul de toluidina. A análise histológica foi realizada sob microscopia de luz em sistema de análise digital composto por um Microscópio óptico Zeiss Axio Scope A1<sup>®</sup>, acoplado a uma câmera digital AxioCam MRc5<sup>®</sup>.

Para aferir a quantidade de oócitos nos ovários, fez se a contagem manual, utilizando a objetiva de 2x (Motic Image Plus 2.0), onde foram contabilizados os meses de dezembro/2017, março/2018, junho/2018 e dezembro/2019 com o intuito de abranger o ciclo reprodutivo da espécie. Foram consideradas as seguintes estruturas: oócitos prévitelogênicos (OPV),

oócitos alvéolos corticais (OAC), oócitos em vitelogênese inicial (Vtg1), oócitos em vitelogênese intermediário (Vtg2), oócitos vitelogênicos finais (Vtg3), oócitos com migração do núcleo (OM), foliculos pós ovulatórios (FPO), oócitos atrésicos (OA).

Para saber se houve diferença entre os grupos em relação ao tamanho dos oócitos em vitelogênese final e com migração do núcleo, foi realizado a medição da área ( $\mu\text{m}^2$ ) dos cortes histológicos, com o intuito de comparar se haveria diferença entre o GC e GO. Para a mensuração da área dos oócitos, foram mensurados oócitos em vitelogênese final (Vtg3) ou com migração do núcleo (OM), foi estabelecido os mesmos meses utilizados para a quantificação dos oócitos citados à cima. Para a visualização dos oócitos em vitelogênese final ou com migração da vesícula germinativa, com o intuito de abranger toda a área do corte histológico do ovário, utilizou se a objetiva de 2x e após visualizados os oócitos, sua mensuração foi realizada na objetiva de 10x, onde foram circundados 5 oócitos aleatórios por animal, sendo 10 animais por coleta., totalizando 50 oócitos para cada mês estabelecido de cada grupo experimental (GC e GO), utilizando software ZEN lite. Os estágios e as fases reprodutivas foram classificados de acordo com o descrito por Brown-Peterson et al. (2011) e Quagio - Grassioto, Wildner, Ishiba (2013). O processamento dos materiais biológicos foi realizado no Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), Departamento de Biologia e Zootecnia, FEIS, UNESP.

### **3.4 Análise do perfil de ácidos graxos**

Os lipídeos totais foram extraídos das dietas e tecidos amostrados (fígado e ovário) com uso de uma solução de Clorofórmio/Metanol/Água (2:1:0,5) segundo o método de Folch, Lees, Sloane Stanley (1957), adaptado por Parrish (1999) para amostras de organismos aquáticos. O extrato lipídico total foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio para a eliminação do solvente e para que não houvesse oxidação dos ácidos graxos. Os lipídeos foram separados nas frações neutra (triglicérides) e polar (fosfolipídeos), através de cromatografia de coluna, método desenvolvido por Yang (1995). A metilação das amostras totais foi realizada seguindo-se o método ácido proposto por Kitson, Larsen e Mcewen (1996). A determinação do perfil dos ácidos graxos foi realizada por cromatografia, utilizando-se um cromatógrafo gasoso acoplado a um ionizador de chama (FID) (Varian RC 3900) e a identificação dessas moléculas foi feita com base nos tempos de retenção, utilizando-se padrões compostos de metil ésteres (FAME) (SUPELCO, 37 components, Larodan Chem. Company - Mixture Me93 e Qualmix PUFA fish M - Menhaden Oil), com resultados expressos em %.

Para a análise dos ácidos graxos foi utilizada uma calibração do cromatógrafo com as seguintes características: a leitura foi iniciada a uma temperatura de 170°C mantida por 1 minuto e em seguida por uma rampa de 2.5°C/minuto, até atingir a temperatura final de 220°C, que foi mantida por 5 minutos. O injetor e o detector foram mantidos a 250°C, e foi utilizada uma coluna CP wax 52 CB, com espessura de 0,25 mm, diâmetro interno de 0,25 µm e 30 m de comprimento, tendo o hidrogênio como o gás de arraste (CHRISTIE, W.W. Lipids Analysis. The Oily Press, Bridgwater, UK, 2003).

Esta etapa foi desenvolvida no Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA), UNESP Campus de Ilha Solteira, Departamento de Biologia e Zootecnia e no Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA), USP Campus São Paulo.

### **3.5 Análise estatística**

Para a realização das análises estatísticas relacionadas ao IGS, IHS, análise morfológica e lipídica, deste trabalho, utilizou-se o software livre BioEstat (Instituto Mamirauá). Inicialmente aplicou-se os testes de Bartlett e Shapiro-Wilk para avaliar a homocedasticidade e normalidade dos dados, para verificação das premissas necessárias para testes paramétricos. Assim que se notou que os dados atendiam a tais premissas, foram conduzidas análises com Teste-T (comparação de pares) e correlação de Pearson. Os dados que não atenderam as premissas necessárias para testes paramétricos foram analisados utilizando o teste não-paramétrico Mann-Whitney (Teste U). Todos os dados foram expressos pela média e desvio padrão.

### **3.6 Comitê de ética**

Os procedimentos utilizados neste trabalho foram conduzidos de acordo com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), sob protocolo de nº 0014/2017.



#### 4- RESULTADOS

A análise dos dados de biometria dos animais dos grupos controle e óleo apresentaram valores de comprimento total, massa corpórea, massa dos ovários e do fígado, similares estatisticamente (Tabela 4), durante o período coletado de doze meses.

**Tabela 4.** Dados biométricos médios anual dos exemplares de *Gymnocybus ternetzi*, dos grupos Controle e Óleo.

Medidas	Grupo Controle	Grupo Óleo
Comprimento Total (cm)	5,35 ±0,46	5,29 ±0,49
Massa Corpórea (g)	2,92 ±0,45	2,85 ±0,41
Massa Ovário (g)	0,43 ±0,12	0,42 ±0,11
Massa Fígado (g)	0,02 ±0,009	0,02 ±0,01

**Fonte:** própria autora

##### 4.1 Perfil dos ácidos graxos teciduais

A adição de 5% óleo de peixe marinho na ração, resultou em um aumento real de 2,75% de ácidos graxos da família ômega 3 na ração do GO em relação ao GC.

A análise da composição de ácidos graxos teciduais hepático e gonadal estão apresentadas nas tabelas 5 e 6 e figuras 3 e 4. A determinação do perfil de ácidos graxos polares dos tecidos dos animais permitiu avaliar o percentual de cada ácido graxo e, conseqüentemente, dos principais agrupamentos, como os ácidos graxos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) e, dentro deste os ácidos graxos da família ômega 3 (PUFAn3) e ômega 6 (PUFAn6) dos tecidos analisados. O detalhamento do perfil dos ácidos graxos mostrou, independente do tecido, grande abundância dos ácidos graxos C16:0, C18:0, C18:1n9, C18:2n6, C20:4n6, C22:5n6, C22:5n3 e C22:6n3.

Com o detalhamento dos ácidos graxos foi possível observar para ambos os tecidos que na coleta inicial houve uma porcentagem maior do ácido araquidônico (C20:4n6), quando comparado com o ácido docosahexaenóico (C22: 6n3), contudo quando os animais passaram a ser alimentados com a dieta controle e com adição de óleo de peixe marinho, esses valores se inverteram, onde houve um aumento na porcentagem do ácido docosahexaenóico (C22: 6n3), com um decréscimo dos valores para o ácido araquidônico (C20:4n6).

**Tabela 5.** Perfil de ácidos graxos (%) da fração polar hepática de fêmeas de *Gymnocyribus ternetzi*, alimentadas com dieta controle e com adição de óleo de peixe marinho, ao longo do ciclo reprodutivo (Média ± DP).

Ácidos graxos (%)	Inicial	Dezembro		Março		Junho		Outubro	
		Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo
C16:0	21,8±1,34	22,6±19,1	23,4±2,94	24,9±0,89	26,8±2,93	26,2±6,72	22,2±2,41	22,1±1,52	24,9±1,01
C16:1	1,6±0,46	2,3±0,31	2,3±0,42	2,3±1,38	2,4±0,94	2,7±0,61	3,2±0,56	2,6±0,59	2,3±0,74
C17:0	2,3±0,80	2,4±1,20	2,6±1,67	3,0±1,41	3,1±0,83	4,8±4,42	1,7±0,59	1,6±0,25	2,4±0,85
C18:0	19,7±1,08	16,8±1,22	20,3±2,70	15,4±2,03	18,8±1,50	17,9±3,15	19,7±1,56	18,1±0,98	20,0±2,53
C18:1n9	16,9±2,18	19,4±2,04	17,2±3,15	15,6±7,45	18,2±1,43	18,0±5,11	21,6±2,61	19,8±0,82	18,2±1,49
C18:2n6	3,7±0,76	8,4±1,68	8,3±1,37	7,7±3,68	8,8±0,49	7,7±3,96	8,4±0,94	9,2±0,94	8,3±0,76
C18:4n3	0,9±0,55	0,5±0,28	0,8±0,23	2,8±4,46	0,7±0,49	1,4±0,77	1,0±0,71	0,4±0,20	0,8±0,31
C20:3n6	2,0±0,48	3,2±0,54	1,5±0,42	2,4±0,46	0,9±0,22	2,5±1,03	0,8±0,13	2,8±0,53	1,5±0,37
C20:4n6	12,7±1,65 <sup>a</sup>	5,9±0,41 <sup>b</sup>	4,3±1,99 <sup>b</sup>	4,3±0,78 <sup>b</sup>	3,4±0,95 <sup>b</sup>	2,6±0,85 <sup>b</sup>	2,9±0,35 <sup>b</sup>	4,4±0,89 <sup>b</sup>	3,7±0,49 <sup>b</sup>
C20:4n3	1,0±0,54	0,8±0,86	0,9±0,15	1,5±1,21	1,9±0,36	1,3±0,77	2,0±0,42	1,3±0,50	1,2±0,58
C22:2n6	0,9±0,48	0,6±0,50	0,9±0,27	2,7±4,45	0,6±0,49	0,9±0,46	0,7±0,58	0,1±0,13	0,7±0,25
C22:5n6	3,0±0,44	0,9±0,12	0,6±0,16	1,5±2,32	0,3±0,20	0,3±0,26	0,4±0,18	0,5±0,07	0,4±0,13
C22:5n3	4,8±1,02	1,4±0,35	0,9±0,14	1,8±2,24	0,8±0,33	1,9±1,75	0,9±0,44	0,5±0,03	0,5±0,13
C22:6n3	8,7±1,54 <sup>a</sup>	14,9±2,32 <sup>b</sup>	16,1±2,66 <sup>b</sup>	14,3±1,92 <sup>b</sup>	13,3±3,79 <sup>b</sup>	11,8±6,55 <sup>b</sup>	14,4±2,83 <sup>b</sup>	16,7±1,23 <sup>b</sup>	15,0±2,55 <sup>b</sup>
<b>SAT</b>	43,9±1,78	41,8±2,84	46,3±6,34	43,4±1,61	48,7±2,48	48,9±13,44	43,6±3,17	41,8±0,70	47,3±3,33
<b>MUFA</b>	18,5±2,61	21,7±2,31	19,5±3,26	17,9±8,83	20,6±2,10	20,7±5,49	24,8±3,08	22,4±0,86	20,4±2,06
<b>PUFA</b>	37,6±2,53	36,5±2,79	34,2±3,56	38,8±10,32	30,7±4,00	30,4±8,99	31,6±3,61	35,9±1,39	32,2±2,49
<b>PUFA n3</b>	15,3±1,80	17,5±1,61	18,6±2,75	20,3±6,05	16,6±3,67	16,4±3,62	18,4±2,44	18,8±1,50	17,6±2,76
<b>PUFA n6</b>	22,3±0,93 <sup>a</sup>	19,0±1,47	15,6±1,72 <sup>b</sup>	18,5±4,29	14,1±0,86 <sup>b</sup>	14,0±5,54 <sup>b</sup>	13,2±1,72 <sup>b</sup>	17,1±1,37	14,6±0,33 <sup>b</sup>

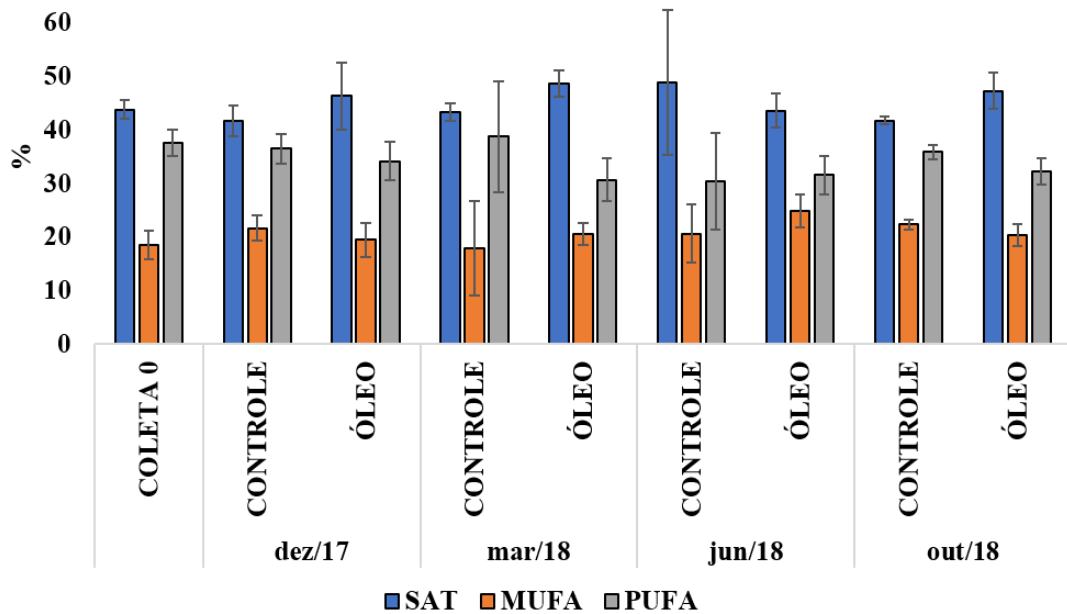
**Fonte:** própria autora: ab Letras diferentes significam diferenças estatísticas (P<0.05) entre os tratamentos. Valores abaixo de 0.1 não foram considerados. SAT, MUFA, PUFA, PUFAn3 e PUFAn6 são as somatórias dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados n6 e poli-insaturados n3

**Tabela 6.** Perfil de ácidos graxos (%) da fração polar gonadal de fêmeas de *Gymnocyribus ternetzi*, alimentadas com dieta controle e com adição de óleo de peixe marinho, ao longo do ciclo reprodutivo (Média ± DP).

Ácidos graxos (%)	Inicial	Dezembro		Março		Junho		Outubro	
		Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo	Controle	Óleo
C16:0	23,6±2,00	25,8±1,32	26,8±1,44	26,4±2,42	26,1±1,08	24,0±1,24	24,8±1,10	24,7±2,38	25,9±0,83
C16:1	3,0±0,73	2,7±0,07	2,6±0,30	2,9±0,60	3,7±0,93	2,2±0,21	3,1±0,27	2,7±0,45	2,4±0,37
C17:0	0,6±0,27	0,7±0,06	0,8±0,15	0,8±0,03	1,1±0,22	1,0±0,24	0,9±0,10	1,0±0,39	1,2±0,13
C18:0	12,2±0,69	11,4±0,62	11,1±0,98	11,6±1,33	11,6±0,97	11,6±0,41	11,8±0,85	13,4±2,21	13,2±0,91
C18:1n9	20,9±1,56	21,7±1,52	20,5±1,21	23,5±2,39	22,6±1,00	23,1±1,62	22,0±0,66	22,0±2,51	20,1±0,85
C18:2n6	4,5±0,62	7,3±0,81	7,4±0,34	8,3±0,77	8,8±1,63	9,3±0,32	7,8±0,47	8,3±2,54	7,6±0,55
C18:4n3	0,5±0,86	0,1±0,05	0,1±0,05	0,1±0,03	0,2±0,17	0,6±0,99	0,4±0,43	0,1±0,10	0,1±0,08
C20:3n6	2,2±0,19	2,5±0,45	1,4±0,19	1,6±0,40	0,8±0,19	2,0±0,30	0,7±0,13	1,8±0,48	1,0±0,24
C20:4n6	13,1±1,13 <sup>a</sup>	5,8±0,45 <sup>b</sup>	4,5±0,59 <sup>b</sup>	3,3±0,16 <sup>b</sup>	2,8±0,29 <sup>b</sup>	2,6±0,45 <sup>b</sup>	2,9±0,07 <sup>b</sup>	2,7±0,76 <sup>b</sup>	2,3±0,16 <sup>b</sup>
C20:4n3	1,4±2,62	1,3±0,68	0,8±1,38	0,1±0,06	1,6±1,32	0,9±0,80	2,5±2,11	0,7±0,98	3,0±1,85
C22:2n6	0,7±1,22	0,1±0,04	0,1±0,03	0,1±0,02	0,2±0,10	0,5±0,58	0,4±0,56	0,1±0,01	0,2±0,25
C22:5n6	3,1±0,62	1,5±0,15	1,1±0,19	0,6±0,13	0,4±0,06	0,5±0,06	0,5±0,09	0,7±0,16	0,6±0,02
C22:5n3	5,3±2,19	2,3±0,46	1,7±0,41	1,0±0,17	0,8±0,22	0,8±0,14	0,8±0,04	0,6±0,12	0,7±0,04
C22:6n3	9,0±2,41 <sup>a</sup>	16,7±0,49 <sup>b</sup>	21,1±1,45 <sup>b</sup>	19,6±1,00 <sup>b</sup>	19,2±2,09 <sup>b</sup>	21,1±1,98 <sup>b</sup>	21,2±1,28 <sup>b</sup>	21,1±3,92 <sup>b</sup>	21,7±1,39 <sup>b</sup>
SAT	36,4±1,55	38,0±0,99	38,7±1,18	38,9±1,23	38,8±0,57	36,5±1,33	37,5±0,61	39,2±1,89	40,3±1,31
MUFA	23,9±2,16	24,4±1,56	23,1±1,46	26,5±2,71	26,3±1,30	25,3±1,76	25,2±0,71	24,7±2,95	22,6±0,95
PUFA	39,7±3,31	37,6±0,79	38,2±2,18	34,7±1,97	34,9±0,96	38,2±0,58	37,3±1,00	36,2±2,97	37,1±0,81
PUFA n3	16,2±2,08 <sup>a</sup>	20,4±1,16 <sup>b</sup>	23,7±1,96 <sup>b</sup>	20,8±0,90 <sup>b</sup>	21,9±1,77 <sup>b</sup>	23,4±0,62 <sup>b</sup>	24,9±1,25 <sup>b</sup>	22,6±3,69 <sup>b</sup>	25,5±1,28 <sup>b</sup>
PUFA n6	23,5±1,79 <sup>a</sup>	17,2±1,23 <sup>b</sup>	14,5±0,58 <sup>b</sup>	13,9±1,21 <sup>b</sup>	13,0±1,79 <sup>b</sup>	14,8±0,28 <sup>b</sup>	12,4±0,57 <sup>b</sup>	13,6±1,27 <sup>b</sup>	11,7±0,55 <sup>b</sup>

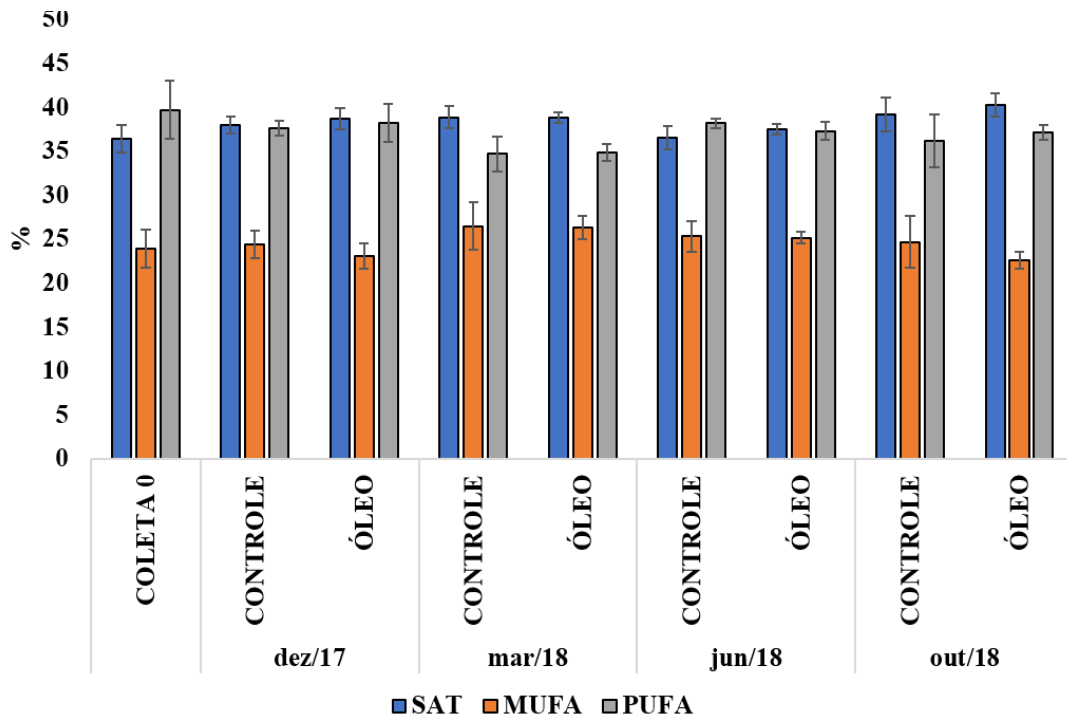
**Fonte:** própria autora. ab Letras diferentes significam diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. Valores abaixo de 0.1 não foram considerados. SAT, MUFA, PUFA, PUFAn6 e PUFAn3 são as somatórias dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados n6 e poli-insaturados n3.

**Figura 3.** Perfil de ácidos graxos (%) da fração polar hepática de fêmeas de *Gymnocorymbus ternetzi*,



**Fonte:** própria autora. **Legenda:** SAT - ácidos graxos saturados, MUFA- ácidos graxos monoinsaturados, PUFA- ácidos graxos poli-insaturados.

**Figura 4.** Perfil de ácidos graxos (%) da fração polar gonadal de fêmeas de *Gymnocorymbus ternetzi*,

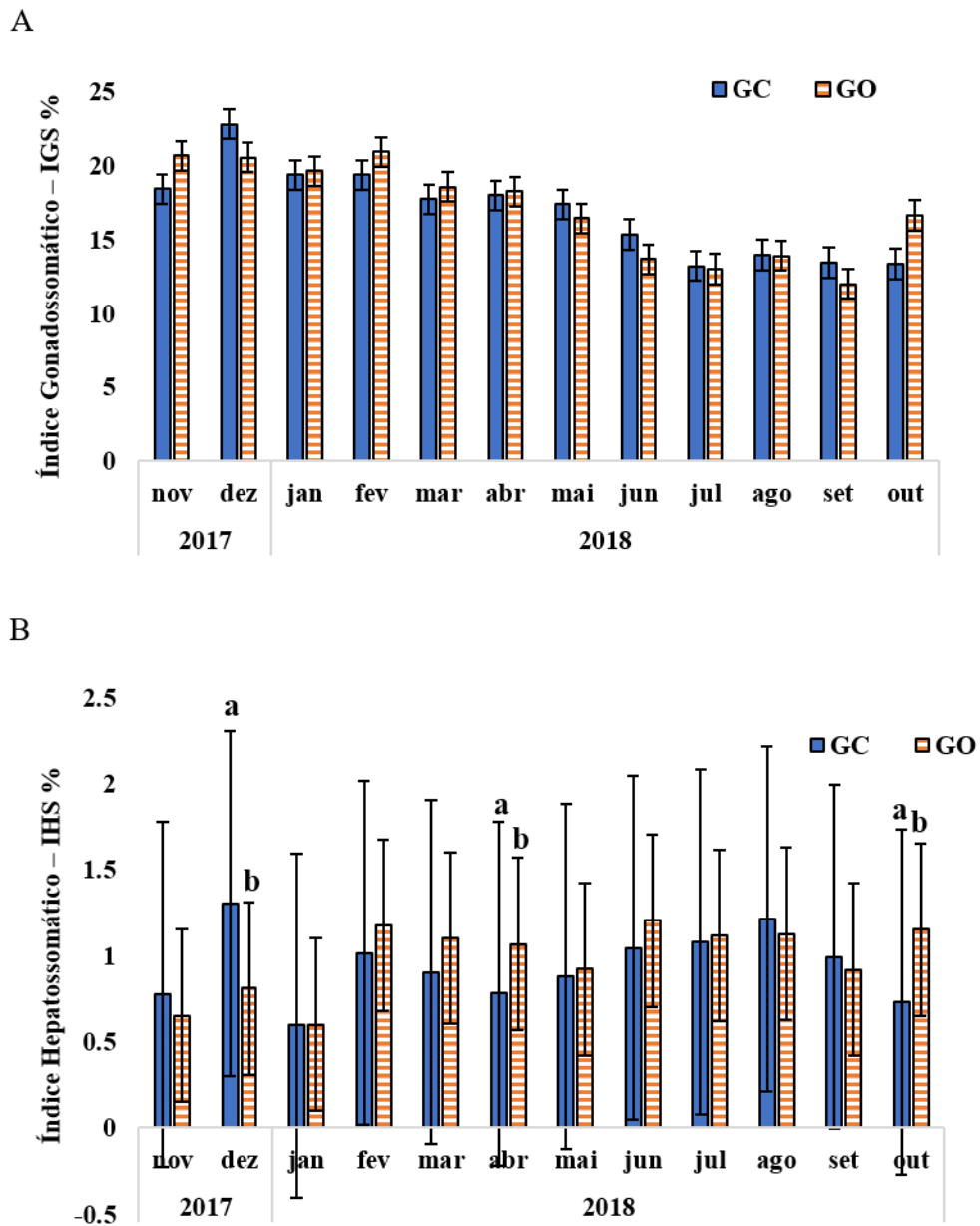


**Fonte:** própria autora. **Legenda:** SAT - ácidos graxos saturados, MUFA- ácidos graxos monoinsaturados, PUFA- ácidos graxos poli-insaturados.

#### 4.2 Análises dos Índices Gonadossomático e Hepatossomático

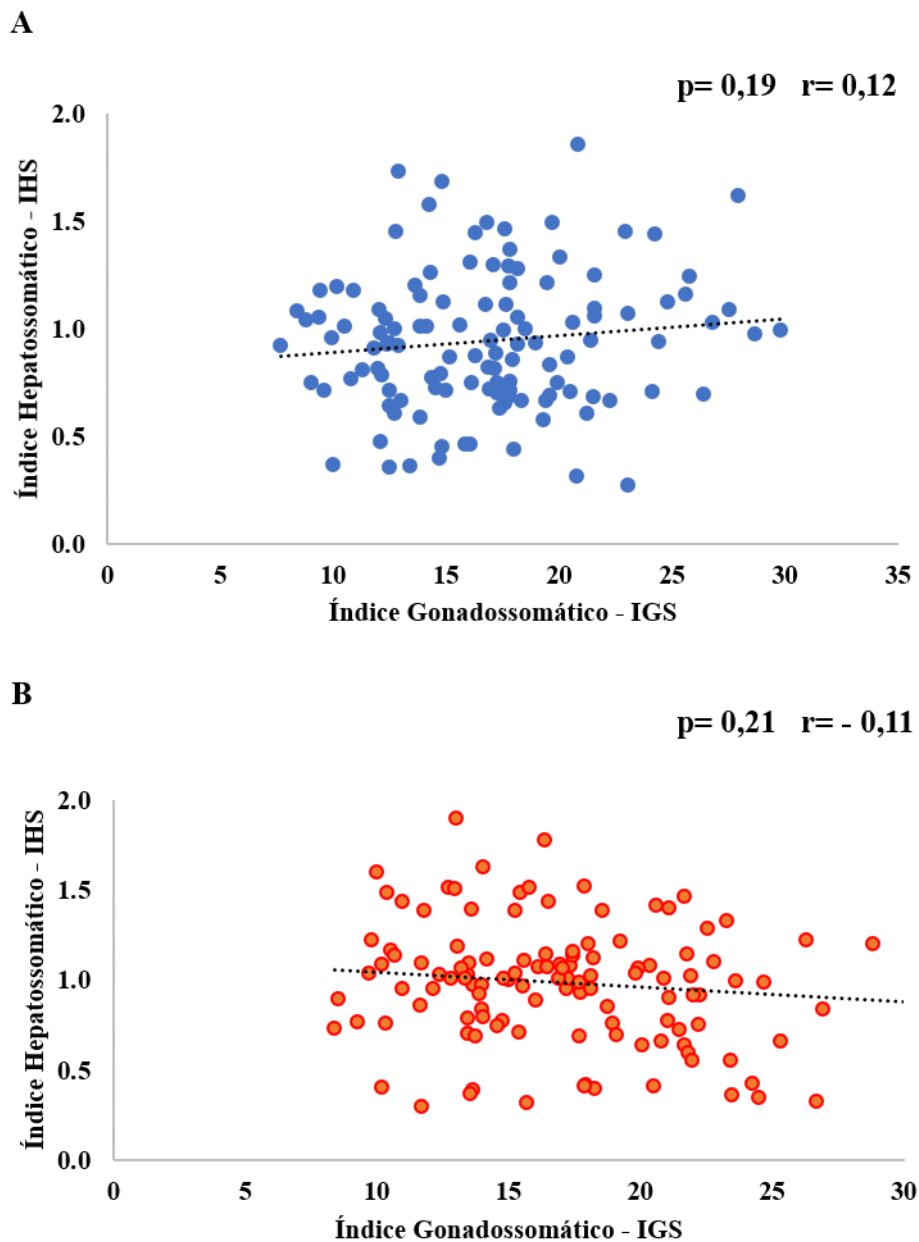
As análises estatísticas para o índice gonadossomático (IGS) e o índice hepatossomático (IHS), foram realizadas a partir das médias mensais e anual para os dois grupos testados. A média anual do IGS no GC foi  $16,85 \pm 4,80\%$  e no GO foi  $17,00 \pm 4,74\%$ , quanto a média anual do IHS no GC foi  $0,94 \pm 0,32\%$  e no GO  $0,98 \pm 0,34\%$ , sendo que os índices citados não diferiram estatisticamente. Em relação as médias mensais, o IGS não apresentou diferença significativa entre os grupos (Fig.5-A). Quanto a média mensal do IHS, o GC no mês de dezembro /2017 apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) com média de  $1,30 \pm 0,17\%$  em relação ao GO  $0,80 \pm 0,36\%$  com valor médio maior para GC. Já nos meses de abril e outubro/2018, o GO apresentou médias  $1,06 \pm 0,25\%$  e  $1,15 \pm 0,29\%$  respectivamente e o GC apresentou médias  $0,77 \pm 0,17\%$  e  $0,73 \pm 0,28\%$ , com médias maiores para GO ( $p \leq 0,05$ ), (Fig.5-B). Aplicou-se também o teste de correlação linear entre o IGS e IHS resultando em uma correlação negativa fraca (Fig. 6 –B), para GO.

**Figura 5.** Valores médios dos índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS), para fêmeas de *G. ternetzi* dos grupos Controle (GC) e Óleo (GO).



**Fonte:** própria autora. Comparação entre os grupos estudados, onde letras diferentes indicam diferenças estatística ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com o Teste t. A- Índice Gonadossomático. B- Índice Hepatosomático. Grupo Controle (GC) e Grupo Óleo (GO).

**Figura 6.** Correlação linear entre o Índice Gonadossomático (IGS) e o Índice Hepatosomático (IHS) em fêmeas de *G. ternetzi*.



**Fonte:** própria autora. Correlação linear de Pearson. A – Grupo Controle (GC). B – Grupo óleo (GO).

#### 4.3- Análise Morfológica

No ovário de *Gymnocorymbus ternetzi* o desenvolvimento oocitário, inicia-se com crescimento primário, onde oócitos pré vitelogênicos (opv) são observados, apresentando citoplasma basófilo, nucléolos na região perinucleolar e camada folicular pavimentosa (Figura 7A, B, C), posteriormente nota-se uma fina camada da zona radiata junto com a deposição de

alvéolos corticais na periferia, diferenciando-se em oócitos alvéolo cortical.

Após esse evento tem início o crescimento secundário, caracterizado pela deposição de pequenos grânulos de vitelo no citoplasma do oócito, na região periférica junto com os alvéolos corticais, caracterizando o oócito vitelogênico inicial (Vtg1) (Figura 7C) e posteriormente os grânulos vitelo gradualmente aumentam seu volume e ocupam o citoplasma, ocorrendo assim o espessamento da zona radiata, caracterizando o oócito vitelogênico intermediário (Vtg2) e por fim quando todo o citoplasma for preenchido com grânulos vitelo forma-se então o oócito vitelogênico (Vtg3) (Figura 7C, D, E).

O oócito maduro (om), apresenta todo o citoplasma preenchido por vitelo, complexo folicular bem desenvolvido e a migração da vesícula germinativa em direção à micrópila (Figura 7F, G). Quando esses oócitos maduros são liberados na luz do ovário, é oocitado a região da zona radiata, vitelo e grânulos corticais, restando apenas a camada da teca e a camada folicular, e essas formam o folículo pós-ovulatório (fpo) (Figura 7H). Os oócitos atrésicos (oa) foram caracterizados pela reabsorção dos grânulos de vitelo e células foliculares em degeneração (Figura 7F).

Com os estágios da oogênese estabelecidos, foi possível distinguir histologicamente as fases reprodutivas entre o GC e o GO, nos meses de novembro/2017 a outubro/2018. Os ovários, tanto do grupo controle quanto no grupo com óleo, apresentaram como fase de apto a desova: subfase de desova ativa durante todos meses de coleta (Fig.8A, B), repletos de oócitos vitelogênicos finais com núcleo central (Fig.8C, D, F) e oócitos maduros com visível migração do núcleo em direção a micrópila (Fig. 8E,G,H) e com poucos oócitos em crescimento primário (Fig. 8C,D,E,F).

A análise estereológica foi realizada comparando a porcentagem de oócitos nos ovários entre os grupos controle e grupo óleo, nos meses de dezembro/2017, março, junho e outubro/2018. Deste modo, em relação a presença de oócitos pré-vitelogênicos, que são estágios iniciais, foi observado o seguinte: nos meses de dezembro/2017 (GC - 64,63%; GO 56,73%) e outubro/2018( GC – 52,06; GO – 49.51%) o GC apresentou discreto aumento na quantidade, e para GO este aumento no percentual de oócitos pré-vitelogênicos foi detectado nos meses de março/2018 (GC - 58,89% ; GO – 61,10%) e junho/2018 (GC – 54,75%; GO – 59,25%), contudo estes valores não variaram estatisticamente entre os grupos controle e óleo (Fig.9A).

No caso de oócitos alvéolos corticais, GO apresentou maior quantidade destes, nos três primeiros meses analisados, dezembro/2017 (GC – 3,35%; GO 3,72%), março/2018 (GC – 2,11% ; GO – 3,20%), junho/2018 (GC – 2,03%; GO – 2,28%) e, GC somente no mês de



outubro/2018( GC – 4,87; GO – 3,05%), entretanto os valores não diferiram estaticamente ( $\alpha=0,05$ ) (Fig.9B).

Os oócitos em vitelogênese inicial (início de deposição do vitelo na periferia) nos meses de dezembro/2017 (GC – 2,85%; GO 1,89%) e junho/2018 (GC – 2,75%; GO – 2,55%) apresentou porcentagens maiores para o GC e nos meses de março/2018 (GC – 2,79% ; GO – 3,02%) e outubro/2018 ( GC – 2,22; GO – 3,11%), entretanto não havendo diferença estatística significativa ( $p\geq 0,05$ ) entre os grupos (Fig.9C).

No caso da quantidade de oócitos em vitelogênese intermediária não foram detectados valores significativamente diferentes entre os grupos ( $p\geq 0,05$ ). GC apresentou maiores percentuais nos meses dezembro/2017 (GC – 4,3%; GO – 3,34%), março/2018 (GC – 4,09% ; GO – 2,16%) e junho/2018 (GC – 4,39%; GO – 1,54%) e, GO somente no mês de outubro/2018( GC – 4,5; GO – 5,98%) (Fig.9D).

A quantidade de oócitos em vitelogênese final entre os grupos também não diferiu estatisticamente entre si, mas GO nos meses de dezembro/2017 (GC – 18,76%; GO 26,24%) apresentou um maior percentual que GC, porém nos meses subsequentes, GC apresentou maior quantidade de oócitos vitelogênicos finais, março/2018 (GC – 25,43% ; GO – 21,24%), junho/2018 (GC – 28,68%; GO – 24,07%) e outubro/2018( GC – 28,71; GO – 27,84%) (Fig.9E).

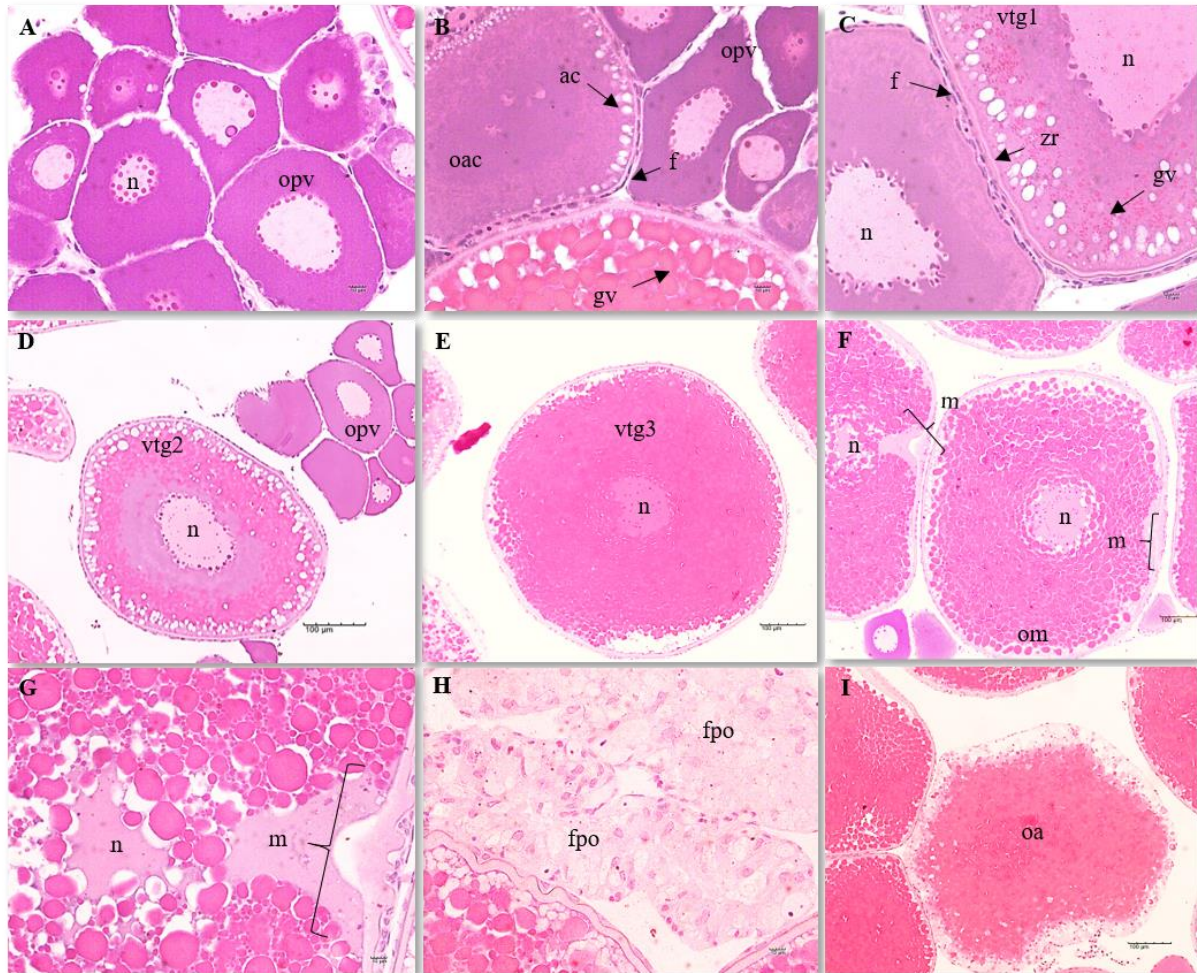
Em relação a quantidade de oócitos maduros (OM) (migração do núcleo para a periferia) foi detectado um aumento significativo ( $p\geq 0,05$ ) para GO nos meses de dezembro/2017 (GC – 3,95%; GO 6,90%), março/2018 (GC – 4,18% ; GO – 6,07%), junho/2018 (GC – 3,93%; GO – 5,63%) em relação a GC, já para o mês de outubro/2018 (GC – 6,10; GO – 8,24%), apesar do percentual de OM continuar maior para GO, estatisticamente não houve diferença (Fig.9F).

O percentual de folículos pós-ovulatórios foram similares para ambos os grupos, porém GO mostrou um discreto aumento no percentual de presença destes em dezembro/2017 (GC – 0,10%; GO 0,11%), março/2018 (GC – 0,04% ; GO – 0,07%) e outubro/2018 (GC – 0,12; GO – 0,24%), podendo indicar que os animais suplementados com óleo de peixe marinho tiveram um aumento de desovas, com exceção de junho/2018 (GC – 0,20%; GO – 0,00%) pois não foi detectado a presença de folículos pós-ovulatórios (Fig.9G).

A presença de oócitos atrésicos (Fig.8H) nos meses de dezembro/2017 (GC – 2,05%; GO 1,08%), março/2018 (GC – 2,47%; GO – 2,57%) e outubro/2018 (GC – 1,42; GO – 2,01%) tiveram similaridade ( $p\geq 0,05$ ) na comparação entre os grupos. No mês de junho/2018 (GC – 3,27%; GO – 4,68%), foi detectado um aumento significativo de oócitos atrésicos ( $p\geq 0,05$ ) para

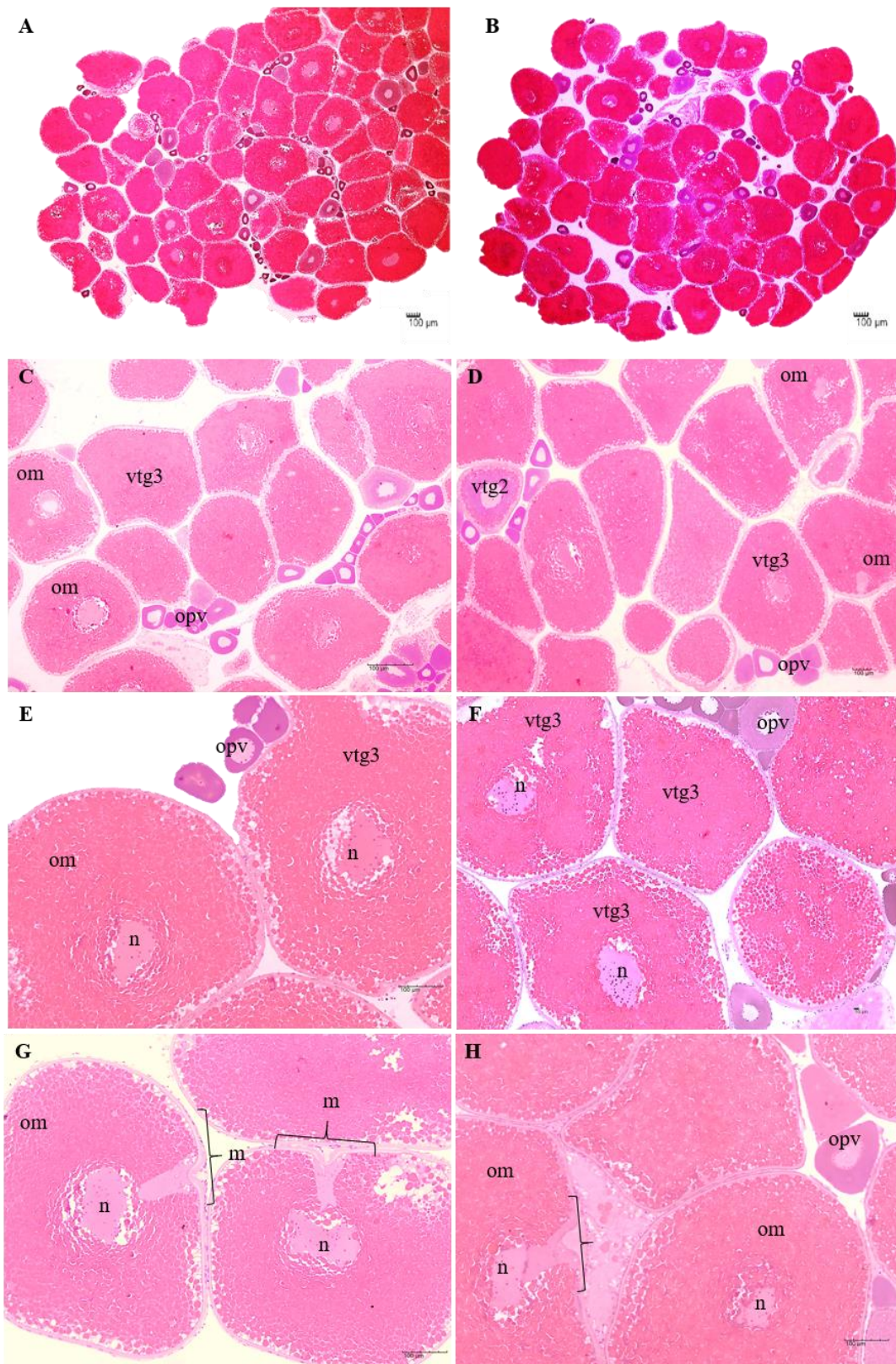
GO e, não foram encontrados folículos pós ovulatórios neste período, pode-se sugerir que as fêmeas de GO não desovaram e que os oócitos estavam sendo reabsorvidos.

**Figura 7.** Descrição dos estágios da oogênese, em fêmeas de *G. ternetzi*



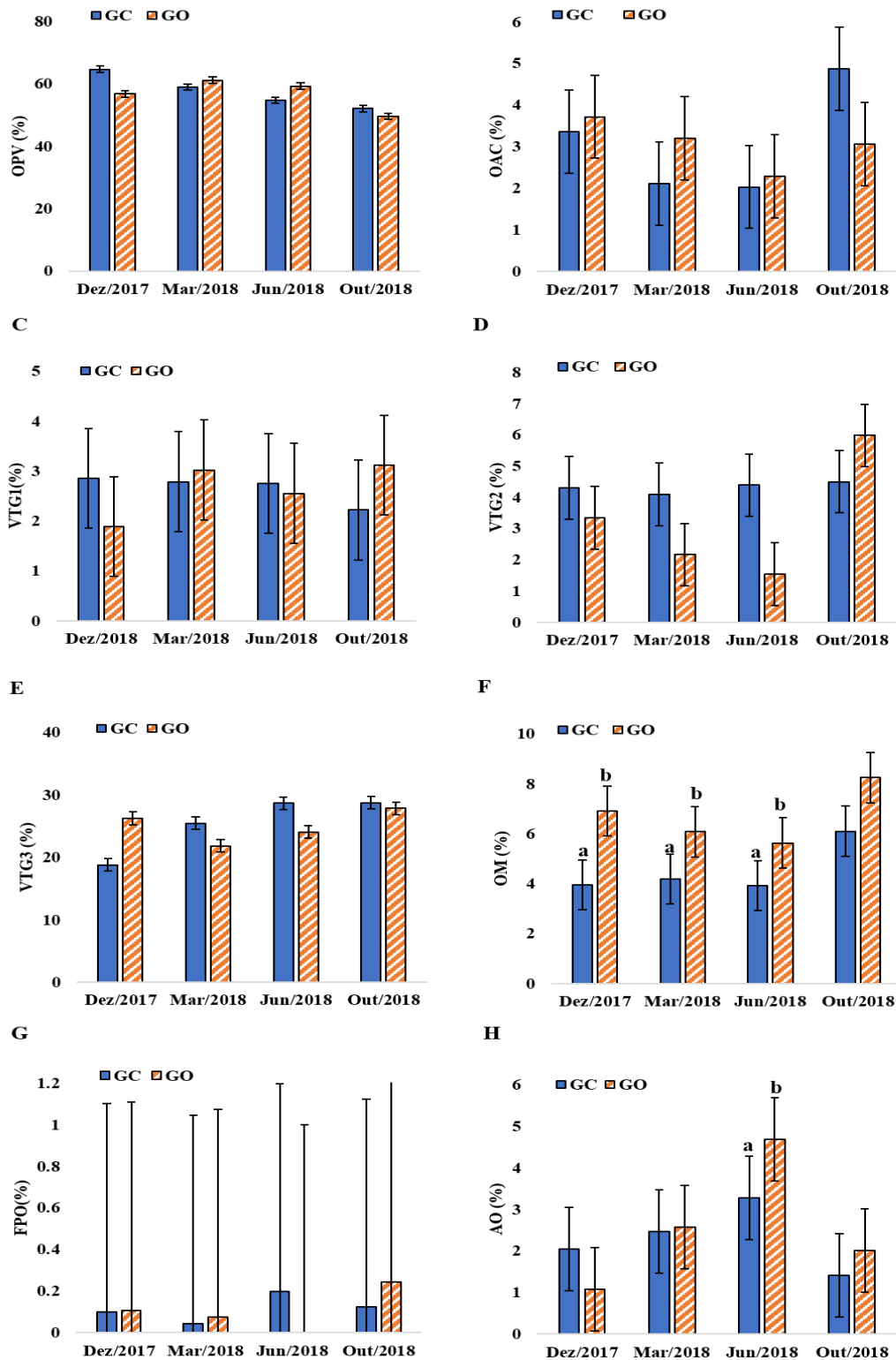
**Fonte:** própria autora. Crescimento Primário: A- Oócito pré-vitelogênico; B- Oócito alvéolo cortical. Crescimento Secundário: C- Oócito em vitelogenese inicial; D- Oócito em vitelogenese intermediário E- Oócito em vitelogenese final; F, G- Oócito Maduro; H- Folículo pós- ovulatório; I - Oócito atrésico. **Legendas:** n - núcleo; ac - alvéolo cortical; gv - grânulos de vitelo; zr - zona radiata; f - camada folicular; m - micrópila; opv – oócito pré vitelogênico; oac oócito alvéolo cortical; vtg1- oócito vitelogênico inicial; vtg2- oócito vitelogênico intermediário; vtg3 oócito vitelogênico final; om- oócito maduro; oa - oócito atrésico; fpo - folículo pós- ovulatório

**Figura 8.** Morfologia ovariana de *Gymnocorymbus ternetzi*. Fase de apto a desova: subfase de desova: Grupo controle (A, C, E, G); Grupo óleo (B, D, F, H).



**Fonte:** própria autora.: **Legendas:** n - núcleo; m - micrópila; opv – oócito pré vitelogênico; vtg2- oócito vitelogênico intermediário; vtg3 oócito vitelogênico final; om- oócito maduro.

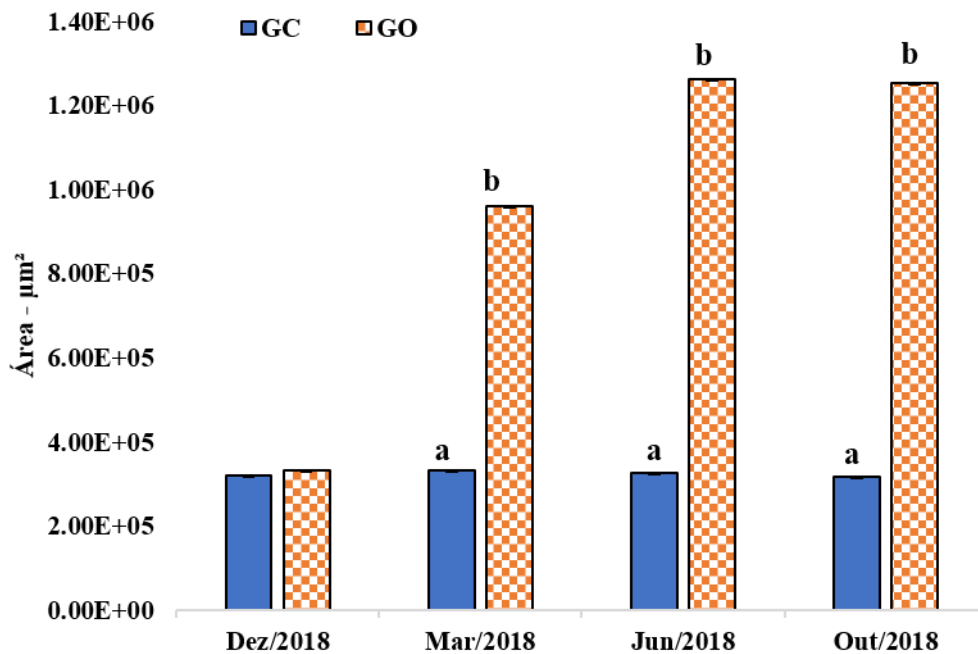
**Figura 9.** Análise estereológica dos estágios da oogênese de *Gymnocorymbus ternetzi*. Grupos controle e óleo.



**Fonte:** própria autora. Comparação entre os grupos controle e óleo, onde letras diferentes indicam diferenças estatística ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com o Teste t. e Teste U. Grupo controle e Grupo óleo. A-opv – oócito pré vitelogênico; B- oac oócito álveolo cortical; C- vtg1- oócito vitelogênico inicial; D- vtg2- oócito vitelogênico intermediário; E- vtg3 oócito vitelogênico final; F- om- oócito maduro; G- fpo – folículo pós- ovulatório; H- oa- oócito atrésico.

Não foi detectada diferença ( $p \geq 0,05$ ) em relação ao aumento do tamanho dos oócitos em vitelogenese final e com migração do núcleo, das fêmeas amostradas entre os grupos tratamento, para o mês de dezembro/2017 (GC – 320591,48  $\mu\text{m}^2$  ; GO 331111,16  $\mu\text{m}^2$ ), mas em relação aos meses de março/2018 (GC – 333069,37  $\mu\text{m}^2$ ; GO – 960478,45  $\mu\text{m}^2$ ), junho/2018 (GC – 327197,86  $\mu\text{m}^2$ ; GO – 1262535,47  $\mu\text{m}^2$ ) e outubro/2018 (GC – 315383,10  $\mu\text{m}^2$ ; GO – 1253784,697  $\mu\text{m}^2$ ) foi detectado que os oócitos de GO apresentaram tamanho significativamente maior ( $p \geq 0,05$ ) (Fig.10)

**Figura 10.** Área dos oócitos em vitelogenese final e maduros de *Gymnocorymbus ternetzi*.



**Fonte:** própria autora. Comparação da área dos oócitos entre os grupos controle e óleo, onde letras diferentes indicam diferenças estatísticas ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com o Teste U. Grupo controle (GC) e Grupo óleo (GO).

## 5. DISCUSSÃO

Com a adição de ácidos graxos da família ômega 3 na ração, obteve-se o detalhamento do perfil dos ácidos graxos, em que independente do tecido, fígado ou ovário, houve grande abundância dos ácidos graxos poli-insaturados. Foi possível observar uma constância de valores, temporal e dependente dos tratamentos avaliados, porém a comparação com os animais coletados ao início do experimento, momento anterior ao início da alimentação, mostrou um nítido padrão de maiores valores de PUFA n6, notadamente representado pelas porcentagens de ácido araquidônico (C20:4n6), que diminuiu consideravelmente a partir do início do experimento, notadamente na coleta realizada em dezembro/2017, mantendo os baixos valores para este PUFA, padrão contrário ao aumento de PUFA n3, representado pelo ácido docosaenoico, DHA (C22:6n3).

Então, pode-se dizer que a tendência dos animais do presente trabalho em diminuir as quantidades de ácidos graxos PUFA n6 e aumentar PUFA n3 em ambos os grupos, pode estar relacionada a inserção de uma ração de melhor qualidade, pois a ração comercial utilizada para ambos os grupos, com e sem adição de óleo de peixe marinho, possuía ômega 3 em sua formulação, e anteriormente aos tratamentos, os animais eram mantidos em criadouros comerciais, provavelmente alimentados com dietas pobres em AGE, como descrito por HORROBIN (1991), que diz que o excesso de PUFA n6 na dieta pode inibir o metabolismo de PUFA n3, embora em geral, os PUFAS n3 são mais eficientes em inibir o metabolismo dos n-6 PUFAS que vice-versa.

Os ácidos graxos altamente insaturados como o ácido docosaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido araquidônico (ARA), que mostraram-se em grande porcentagem nas análises dos tecidos hepático e gonadal, durante o período vitelogênico apresentam potencial de transferência, via vitelogenina para os ovos, constituindo a maioria dos componentes estruturais durante a organogênese, como as membranas das células (musculares, cerebrais, retina) e são precursores da atividade fisiológica de moléculas como os eicosanoides (ABI-AYAD et al., 2004). Os ácidos graxos dos triacilgliceróis são catabolizados para prover energia metabólica para o desenvolvimento do ovo e da larva (DHURMEEA et al., 2018)

Outro aspecto a ser discutido é a similaridade dos resultados de PUFAs obtidos entre os grupos testados, essa pode estar relacionada a baixa porcentagem de ômega 3 incluída na ração, uma vez que a ração utilizada para o GC continha 13.54% de ômega 3, e GO 16.2%, um aumento de 2.75%. Essa pequena diferença na porcentagem pode ter influenciado diretamente na similaridade entre os grupos. Trabalhos utilizando adição de 5% de óleo de peixe marinho

na ração, em espécies da ordem Characiformes como: *Astyanax altiparanae* (Bashiyo-Silva, 2018) e *Prochilodus lineatus* (Costa et. al., 2018) obtiveram em suas análises bromatológicas maiores porcentagens de ômega 3 nas rações utilizadas.

A adição de 5% de óleo peixe marinho para *Prochilodus lineatus* (Costa et al., 2018), proporcionou um aumento de quase 18% de ômega 3 na ração para o grupo com adição de ômega 3 (grupo controle 0,71% e o grupo com adição de ômega 3 18,43%), com isso tiveram como resultado o aumento da fração polar dos embriões de PUFA n6, sendo os ácidos graxos C18: 2n6 (ácido linoleico) e C20: 4n6 (AA), este resultado parece contra intuitivo, já que aparentemente a adição com ômega 3 parece ter alterado concentrações de PUFA n6, uma explicação para este fato pode estar ligada à metodologia, já que os embriões foram analisados sem separação de tecidos. É conhecido que lipídios são armazenados diferentemente em tecidos de peixe, incluindo o fígado, músculo, tecido cerebral e tecidos adiposos perivisceral e subcutâneo (HEDAYATIFARD e YOUSEFIAN, 2010). Entre as espécies, o metabolismo lipídico é diferente durante o desenvolvimento larval. Esta diferenciação é devido ao nível e composição de lipídios no vitelo, o tempo, a utilização e a classe de lipídios usados para combustão ou síntese tecidual e o papel dos diferentes ácidos graxos (CEJAS et al., 2004).

Bashiyo-Silva (2018) utilizando como modelo *Astyanax altiparanae*, adicionando também 5% de óleo de peixe marinho a ração fornecida, obteve um aumento de aproximadamente 10 % de ômega 3 na ração suplementada, sendo 3,81% no grupo controle e 13,48% para o grupo com adição de ômega 3, o que resultou em um aumento significativo nos valores de PUFA para a fração polar hepática, com o aumento do ácido araquidônico (AA). Já para a fração polar ovariana, houve aumento de DHA, ocasionando maiores porcentagens de PUFA n-3, e para a fração polar dos embriões advindos de fêmeas com adição do óleo de peixe marinho, também foi demonstrado uma elevação significativa de PUFA, principalmente de DHA.

Levando em consideração os dados acima citados e os resultados obtidos neste experimento com *G. ternetzi*, podemos inferir que a quantidade a ser suplementada de PUFAs n3 na ração fornecida aos peixes deve estar relacionada a um limite fisiológico para absorção destes ácidos graxos, e este limite deve ser espécie-específico, pois as espécies possuem fisiologias reprodutivas, metabolismo e hábitos alimentares diferentes.

Ainda não se tem definido um limite fisiológico das espécies de peixes em absorver os ácidos graxos poli-insaturados, muito menos qual será o seu direcionamento pós assimilação pelo organismo, se é direcionado para o tecido neural, muscular, gonadal, ou mesmo se está relacionado a fase ontogenética em que o indivíduo se encontra. No caso desse experimento,

como foram analisados apenas o fígado e ovário, existe a possibilidade de parte destes nutrientes terem sido incorporados em outros tecidos que não foram analisados.

As porcentagens de DHA encontrado em ambos os tecidos, fígado e ovário, de *G. ternetzi*, pode ser considerado importante para o sucesso reprodutivo destes peixes, pois segundo Harel et al., (2000) e Mourente et al., (1993) o DHA é fundamental para a manutenção e aumento da fluidez da membrana, e podem atuar no desenvolvimento do sistema nervoso e no desenvolvimento embrionário em peixes. Em uma próxima análise, considerando a taxa fertilização dos ovos e da taxa de eclosão das larvas dos grupos testados, visto que Yanes-Roca et al., (2009) relataram que para *Centropomus undecimalis* ovos com altas concentrações deste ácidos graxos tiveram maior taxa de fertilização e larvas com maiores taxas de eclosão e sobrevivência. Muitos estudos relacionam a presença destes ácidos graxos (poli-insaturados ômega 3 de cadeia longa) à regulação esteroideogênica gonadal e maturação dos oócitos (SORBERA et al., 2001) à formação de ovos e maior taxa de sobrevivência das larvas (DAVIDSON et al., 2014).

Quanto a maturação oocitária, que está ligada diretamente a incorporação de vitelogenina, formação do vitelo, crescimento dos oócitos e das gônadas (HAINFELLNER et al., 2012), há uma variação dos índices hepatossomático e gonadossomático neste período, e esta, está diretamente relacionada com a maturação gonadal. Portanto, era esperado que no início da vitelogênese fosse observado um IHS mais alto que o IGS, e nos estágios mais avançados da maturação um comportamento inverso dos índices (ANDRADE; HONJI; ROMAGOSA, 2010), contudo o IGS e IHS em *G. ternetzi* mantiveram os valores médios similares para ambos os grupos, por todo o período de análise, indicando fase de apto a desova: subfase de desova ativa. Os valores constantes de IGS podem estar relacionados com a presença do macho junto a fêmea em cativeiro, como relatado por Navarro et. al (2006) que observou que fêmeas e machos de *Astyanax bimaculatus*, apresentavam IGS similares, quando criados juntos em cativeiro e quando comparados com a mesma espécie quando coletados no ambiente, ou seja no ambiente o espaço é amplo e os animais estão dispersos, diferente dos animais que estão em cativeiro que ficam confinados em um ambiente restrito e também onde a relação macho e fêmea pode ser controlada. Em relação ao IHS, houve uma discreta variação entre os grupos, mais alto para o grupo controle no mês de dezembro/2017, e mais alto para grupo óleo nos meses de abril e outubro/2018, essa diferença ocorreu em momentos distintos e mais frequente no GO, o que sugere e que a suplementação influenciou nesse índice.

Para a análise histológica, não houve variação nas fases reprodutiva, entre os grupos controle e óleo, pois ambos estavam na fase de apto a desova: subfase de desova ativa, diferindo



de Bashiyo-Silva (2018), que notou que para a espécie de *Astyanax altiparanae*, a incorporação de ácidos graxos na dieta levou a um adiantamento nas fases reprodutivas da espécie quando comparado ao grupo controle. Porém Bashiyo-Silva (2018), também relatou que os animais com adição do óleo de peixe marinho obtiveram um maior número de oócitos maduros com migração visível do núcleo em direção a micrópila. Os dados deste trabalho corroboram com esta informação, pois a análise estereológica mostrou diferença na porcentagem de oócitos maduros, ou seja, um aumento deste estágio de desenvolvimento oocitário quando comparado o grupo óleo ao grupo controle, para os meses de dezembro /2017, março e junho/ 2018, Sorbera et al., (2001) onde os ácidos graxos poli-insaturados família do ômega 3 estão relacionados à maturação dos oócitos.

Outro aspecto relacionado a maturação dos oócitos, é que em todo o período de coleta foram encontrados oócitos maduros nas fêmeas, indicando que estes animais estavam sempre aptos a desova, podendo relacionar esse fato com o que diz David e Marimuthu (2014), que sugere que o ciclo gonadal do *G. ternetzi* aparenta ser muito rápido, em torno de quinze dias, contudo a metodologia utilizada neste trabalho, não permitiu observar possíveis alterações quanto a desova, e fases do ciclo gonadal, como de regressão ou adiantamento da maturação em ambos os grupos, uma vez que as coletas foram realizadas a cada 30 dias.

Levando em conta também, a observação de Mazzoni (2013) que a espécie apresenta desova total, restrita a um período do ano, entre final de primavera e início do verão, onde foram mantidas em aquários à 28°C e que próximo ao período reprodutivo ocorreu se então a simulação de chuvas de verão para que ocorresse a desova, este fato foi diferente no atual trabalho em pode se sugerir que as condições ambientais constantes em cativeiro, e com condições ideais de alimentação, temperatura e luminosidade, mantiveram constante o ciclo reprodutivo, com disposição a desova. Com isso pode-se sugerir duas hipóteses quanto ao seu tipo de ciclo gonadal: 1) que este é muito rápido e ocorre em um curto espaço de tempo, em que o amadurecimento dos oócitos e sua liberação (desova total) ou; 2) que há um desenvolvimento oocitário em grupos, durante todo o ano e, sua liberação se efetuará em lotes, desde que as condições ambientais sejam favoráveis.

Quanto ao tamanho da área dos oócitos observou -seum aumento considerável da área para oócitos vitelogênicos finais ou maduros nos meses março, junho e dezembro/ 2018 para GO, por mais que ambos encontrassem na mesma fase reprodutiva. Inferindo que as fêmeas do grupo óleo tiveram uma maior porcentagem de maturação de oócitos quando relacionada ao grupo controle, demonstrando que a adição de PUFA's n3 na alimentação auxiliou na maturação dos oócitos , onde El-Sayed et al, (2003) e Navarro et al, (2009), sugerem que fornecimento de

uma ração adequada ao peixes, neste caso suplementada com o óleo, ou seja, com nutrientes essenciais, pode influenciar a reprodução, o desenvolvimento gonadal, o número e a qualidade de oócitos e espermatozoides.

## 6. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a suplementação de ácidos graxos poli-insaturados PUFAs n3 na dieta de *G. ternetzi*:

- Proporcionou um aumento da incorporação de ômega 3 nos tecidos estudados;
- Determinou um aumento no percentual de oócitos maduros e na área destes para GO;
- Não houve alteração dos valores para o IGS, somente para o IHS nos meses de abril e outubro/2018 para GO e dezembro/2017 para GC;
- Levou à alteração no desenvolvimento gonadal da espécie, principalmente na maturação final dos oócitos.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABI-AYAD, SIDI-MOHAMMED & ZITOUNI, BOUTIBA & MÉLARD, C & KESTEMONT, P. Dynamics of Total Body Fatty Acids During Early Ontogeny of Pikeperch (*Sander lucioperca*) Larvae. **Fish Physiology and Biochemistry**. 30. 129-136. 10.1007/s10695-005-3417-9, 2004.
- ADAMS, S. M. Ecological role of lipids in the health and success of fish populations. In: ARTS, M.T.; WAINMAN, B.C. **Lipids in Freshwater Ecosystems**. 1ed. New York: Springer, p. 142-145, 1999.
- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 174–180, 2013.
- ALONSO, F.; MIRANDE, J. e PANDOLFI, M. Gross anatomy and histology the alimentary system of Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) and potential phylogenetic informantion. **Neotropical Ichthyology**, 13(2), 273-286, 2015.
- ANDRADE, V.X.L.; HONJI, R.M. e ROMAGOSA, E. Processo de maturação das gônadas de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentado com dois níveis proteicos e suplementados com óleo de milho. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** [online]., vol.62, n.2, 2010.
- BALDISSEROTTO B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3.ed. **Santa Maria: Ed. UFSM**. p.352, 2013.
- BASHIYO- SILVA, C. **Criopreservação de embriões de *Astyanax altiparanae*: influência dos ácidos graxos poli-insaturados na resistência dos embriões ao frio, aos crioprotetores e a vitrificação**. 2018. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas - Zoologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2018.
- BENINE, R. C; MELO, B.F; CASTRO, R. M. C.; OLIVEIRA, C. Taxonomic revision and molecular phylogeny of *Gymnocorymbus Eigenmann, 1908* (Teleostei, Characiformes, Characidae). **Zootaxa**. 3956. 1-28. 10.11646/zootaxa.3956.1.1, 2015.
- BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, Bethesda, v. 3, n. 1, p. 52–70, 2011.
- CASSEL, M.; CHEHADE, C.; SOUZA, G.B.; CANEPPELE, D.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M. Ovarian development and the reproductive profile of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) over one year: applications in fishfarming. **Theriogenology**, v. 98, 1–15, 2017.
- CEJAS, J.S.; ALMANSA, E.; JÉREZ, S.; BOLANOS, A.; FELIPE, B.; LORENZO, A. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female

broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.138, p.91–102, 2004.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L.; COSTA, A.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L., LOPES, V. E.; MORAES, V. E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 34, p. 159-167, 2006.

ÇELIK, I; ÇELIK, P; CIRIK, Ş; GÜRKAN, M; HAYRETDİ, S. Embryonic and larval development of black skirt tetra (*Gymnocypris ternetzi*, Boulenger, 1895) under laboratory conditions. **Aquaculture Research**, v. 43, p.1260-1275, 2011.

COSTA, R. S.; SOUZA, F. M. S.; SENHORINI, J. A.; BASHIYO-SILVA, C.; VERÍSSIMOSILVEIRA, R.; COELHO, G. C. Z.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; RIBEIRO, C. S.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Fatty acid influence on *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) embryo cryopreservation parameters. **Aquaculture Research**, p.1–9, 2018.

DAVID C. J. Induction and survival of androgenetic clones of widow tetra, *Gymnocypris ternetzi* (Boulenger, 1895) generated using cryopreserved sperm. **Intl. J Adv. Sci. Eng.**; 2(3): 150-154. 2016 a.

DAVID C. J. Reproductive performance and progeny testing of androgenetic clones of widow tetra, *Gymnocypris ternetzi* Boulenger (Characidae) generated using cryopreserved sperm. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies** 4(4): 115-119, 2016b.

DAVID C. J. and MARIMUTHU, G. Successful Induction of Intra-specific Androgenesis in Widow Tetra, *Gymnocypris ternetzi* (Boulenger 1895) Using UV Irradiation. **Asian Fisheries Science** 27 117-126, 2014.

DAVIDSON, J. et al. Growth Performance, Fillet Quality, and Reproductive Maturity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Cultured to 5 Kilograms within Freshwater Recirculating Systems. **Journal of Aquaculture Research & Development**, v. 05, n. 04, 2014.

DHURMEEA Z, PETHYBRIDGE H, APPADOO C, BODIN N Lipid and fatty acid dynamics in mature female albacore tuna (*Thunnus alalunga*) in the western Indian Ocean. **PLoS ONE** 13(4): e0194558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194558>, 2018

DOS SANTOS- SILVA, A.; SIQUEIRA-SILVA, D.; SILVEIRA-NINHAUS, A.; SILVERIA-VERÍSSIMO, R. Oogenesis in *Laetacara araguaiaae* (Ottoni and Costa, 2009) (Labriformes: Cichlidae). **Zygote**, p. 1-9, 2015.

EL-SAYED, A.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619-632, 2003.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio 1957.

FRANÇA, G. F.; GRIER, H. J.; QUAGIO-GRASSIOTO, I. A new vision of the origin and the oocyte development in the ostariophysi applied to *Gymnotus sylvius* (Teleostei, Gymnotiformes). **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 8, n. 4, p. 787-804, 2010.

FRANKEL J.S. Inheritance of Trunk Banding in the tetra (*Gymnocorymbus ternetzi* Characidae). *Journal of Heredity* 95 (2), 262–264, 2004.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.351-360, 2007.

GONÇALVES, T. L.; BAZZOLI, N.; BRITO, M. F. G. Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Brycon orthotaenia* (GÜNTHER, 1864) (pisces: characidae) in the São Francisco river, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 66, p. 513-522, 2006.

GUIMARÃES, A. C. D.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte primary growth in *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Characidae). **Tissue & Cell**, London, v. 33, p. 241-248, 2001.

HAINFELLNER, P. et al. Gonadal steroids levels and vitellogenesis in the formation of oocytes in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Teleostei: Characiformes). **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 601–612, 2012.

HAREL, M. et al. Modulation of Arachidonate and Docosahexaenoate in Morone chysops Larval Tissues and the Effect on Growth and Survival. **Lipids**, v. 35, n. 11, p. 1269–1280, 2000.

HEDAYATIFARD, M. and M. YOUSEFIAN. The fatty acid composition of golden mullet fillet *Liza aurata* as affected by dry-salting. *J. Fish. Aquat. Sci.*, 5: 208-21, 2010.

HORROBIN, D. F. **Interactions between n-3 and n-6 essential fatty acids (EFAs) in the regulation of cardiovascular disorders and inflammation**. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids, v.44, p. 127-131, 1991.

IZQUIERDO, M. S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J.; Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, p. 25–42, 2001.

KATES, M.; MOLDOVEANU, N.; STEWART, L.C. On the revised structure of the major phospholipid. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1169, p. 46–53, 1993.

KITSON, G.; LARSEN, B.S.; MCEWEN, C.N. Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide. YANG, Z. Development of gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples. St. John's: Memorial University of Newfoundland, 1995. Guide. New York: Academic Press, 1996.

LIMA, R. V. A.; BERNARDINO, G.; VAL-SELLA, M. V.; FAVA DE MORAES, F.; BORELLA, M. I. **Boletim Técnico**, Pirassununga, v. 4, n. 1, p. 1-46, 1991.

LIMA, F.C.T.; MALABARBA, L.R.; BUCKUP, P.A.; PEZZI DA SILVA, J.F.; VARI, R.P.; HAROLD, A.; BENINE, R.; OYAKAWA, O.T.; PAVANELLI, C.S.; MENEZES, N.A.; LUCENA, C.A.S.; MALABARBA, M.C.S.L.; LUCENA, Z.M.S.; REIS, R.E.; LANGEANI, F.; CASATTI, L.; BERTACO, V.A.; MOREIRA C.; LUCINDA, P.H.F. Genera Incertae Sedis

in Characidae. Pp. 106-169. In: Reis, R.E.; Kullander, S.O.; Ferraris Jr, C.J. (Eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Edipucrs, Porto Alegre, p.729, 2003.

MARTINS, Y. S.; MOURA, D. F.; SANTOS, G. B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Comparative folliculogenesis and spermatogenesis of four teleost fish from a Reservoir in south-eastern Brazil. **Acta Zoologica**, Stockholm, v. 91, p. 466 – 473, 2010.

MAZZONI, T. S. Formação do epitélio germinativo e diferenciação das estruturas gonadais : uma análise comparativa entre grupos mais basais (Ostariophysi) e mais derivados (Atherinomorpha e Percomorpha) dentro de Teleostei .Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 2013.

MAZZONI, T. S., GRIER, H. J., & QUAGIO-GRASSIOTTO, I. The basement membrane and the sex establishment in the juvenile hermaphroditism during gonadal differentiation of the *Gymnocorymbus ternetzi* (Teleostei: Characiformes: Characidae). **The Anatomical Record**, 298, 1984–2010, 2015.

MAZZONI, T. S. VIADANNA, R. R., & QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Presence, localization and morphology of TELOCYTES in developmental gonads of fishes. **Journal of Morphology**.;1–12, 2019.

MOURENTE, G. et al. Effects of dietary docosahexaenoic acid ( DHA ; 22 : 6n-3 ) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream ( *Sparus aurata* L . ) larvae during first feeding. **Aquaculture**, v. 112, p. 79–98, 1993.

MOJICA, C. A. P. **Morfologia testicular e estrutura da espermatogênese em peixes ornamentais Tetra Negro, *Gymnocorymbus ternetzi*; Tetra Amarelo, *Hyphessobrycon bifasciatus* e Mato Grosso, *Hyphessobrycon eques* (Teleostei, Characiformes)**. Tese (doutorado) Curso de pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP, Jaboticabal, 95 p, 2007.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 165, n. 3, p. 516–34, 1 fev. 2010.

NAGAHAMA, Y. The functional morphology of teleost gonads. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; DONALDSON, E. M. **Fish Physiology**, New York: Academic Press. p. 223-276, 1983.

NAGAHAMA, Y.; YOSHIKUNI, M; YAMASHITA, M; SAKAI, N; TANAKA, M. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 11, n. 1-6, p. 3–14, jul. 1993.

NAVARRO. R. D., RIBEIRO FILHO, O. P.; CALADO, L. L.; REZENDE, F. P.; SILVA, C. S.; SANTOS, L. C. Comparação morfométrica e índices somáticos de machos e fêmeas do lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) em diferente sistema de cultivo. **Zootecnia tropical**, v. 24, p. 22 – 33. 2006.

NAVARRO, R. D., RIBEIRO FILHO, O. P., FERREIRA, W.M., PEREIRA, F.K.S. A Importância da Vitamina E, C e A na Reprodução de Peixes (Revisão de literatura) **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 33, pp. 20 – 25, 2009.

PARRISH, C. C. Determination of total lipid, lipid classes and fatty acids in aquatic samples. In: WAINMAN, M. T. A. AND B. C. (Ed.). **Lipids in Freshwater Ecosystems**. New York: Springer-Verlag, p. 4–12, 1999.

PATIÑO, R.; SULLIVAN, C. V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrechth, v. 26, p. 57–70, 2002.

PÉRIZ, A. G. **Efectos protectores de los ácidos grasos Omega-3 en el hígado y em el tejido adiposo**. 2009. 198 f. Tese (Doutorado) - Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. 2009.

QUAGIO-GRASSIOTO, I.; GUIMARÃES A. C. D. Follicular epithelium, theca and egg envelope formation in *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Characidae). **Acta Zoological**, v. 84, p. 121-129, 2003.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GRIER, H; MAZZONI, T. S.; NOBREGA, R. H.; AMORIM, J. P. A. Activity of the ovarian germinal epithelium in the freshwater cattfish, *Pimelodus maculatus* (Teleostei : Ostariophysii: Siluriformes) : Germline Cysts, Follicle Formation and Oocyte Development. **Journal of Morphology**, New York, v. 272, p. 1290-1306, 2011.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p.181-191, 2013.

RIBEIRO, C.S e MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia** v.8 p.58–61, 2012.

RIBEIRO, F. A. S. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. **Panorama da Aquicultura**, Laranjeiras, v. 108, jul. 2008.

RIBEIRO, P. A. P.; DE MELO, D. C.; COSTA, L. S.; DE ALENCAR TEIXEIRA, E. Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce. **1. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ**, v. 1. p.89, 2012.

ROBINS, C.R.; BAILEY, R.M.; BOND, C.E.; BROOKER, J.R.; LACHNER, E.A.; LEA, R.N. and SCOTT, W.B. World fishes important to North Americans. Exclusive of species from the continental waters of the United States and Canada. **Am. Fish. Soc. Spec. Publ.** v. 21, p. 243, 1991.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. The Lipids. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish Nutrition**. Elsevier Science: San Diego, p.181-257, 2002.

SELMAN, K.; WALLACE, R. A. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. **Zoological Science**, Tokyo, v. 6, p. 211–231, 1989.

SORBERA, L. A.; ASTURIANO, J.F.; CARRILHO, H.; ZANUY S. Effects of Polyunsaturated Fatty Acids and Prostaglandins on Oocyte Maturation in a Marine Teleost, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 382–389, 2001.

TYLER. C.R. e SUMPTER J.P. Oocyte growth and development in teleosts. **Rev. Fish Biology and Fresheries** 6: 287-318. 1996.



UMA, B.; CHANDRAN, M. R. Induction of triploidy in *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger). **Research Journal of Fisheries and Hydrobiology**, v. 3, p. 41-47, 2008.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Ed da UEM, p.169, 1996.

ZUANON, J.A.S.; SALARO, A.L.; FURUYA, W.M. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40: 165-174. 2011

WALLACE, R. A.; SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. **American Zoologist**, Washington, v. 21, n. 2, p. 325-343, 1981.

WILDNER, D. D.; GRIER, H.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Female germ cell renewal during the annual reproductive cycle in Ostariophysians fish. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 79, n. 4, p. 1–16, 2012.

WILSON, R.P. Lipid nutrition of finfish. In: LIM, C.E.; SESSA, D.J. (Orgs.). **Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture**. Champaign: AOCS Press., p. 74–81, 1995.

YANES-ROCA, C. et al. Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). **Aquaculture**, v. 287, n. 3–4, p. 335–340, 2009.

YANG, Z. **Development of gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples**. St. John's: Memorial University of Newfoundland, 1995.