



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA

Campus de Jaboticabal



Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápia-do-nilo

Thálita Stefann Ribeiro Nascimento
Zootecnista

Jaboticabal – São Paulo

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA

Campus de Jaboticabal



Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápia-do-nilo

Mestranda: Thálita Stefann Ribeiro Nascimento

Orientadora: Marta Verardino de Stéfani

Co-Orientadora: Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Caunesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura

Jaboticabal – São Paulo

2010

N244v Nascimento, Thálita Stefann Ribeiro
Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápia-do-nilo
(*Oreochromis niloticus*) / Thálita Stefann Ribeiro Nascimento. – –
Jaboticabal, 2010
vii, 82 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
de Aquicultura, 2010
Orientador: Marta Verardino de Stéfani
Banca examinadora: João batista Kochenborger Fernandes,
Fernando André Salles
Bibliografia

1. Tilápia-do-nilo - reprodução. 2. *Oreochromis niloticus* - ovos. 3.
Oreochromis niloticus - vitamina E. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de
Aquicultura.

CDU 639:636.085.2

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

Recomeçar

“Não importa onde você parou...

Em que momento da vida você cansou...

O que importa é que sempre é possível e necessário ‘recomeçar’.

Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...

É renovar as esperanças na vida e, o mais importante...

Acreditar em você de novo.

Sofreu muito neste período? Foi aprendizado...

Chorou muito? Foi limpeza de alma...

Ficou com raiva das pessoas? Foi para perdoá-las um dia...

Sentiu-se só por diversas vezes? É porque fechaste a porta até para os anjos...

Acreditou em tudo que estava perdido? Era o início de tua melhora...

Aonde você quer chegar? Ir alto? Sonhe alto...

Queira o melhor do melhor...

Se pensamos pequeno...

Coisas pequena teremos...

Mas se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor...

O melhor vai se instalar em nossa vida.

Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura.”

Carlos Drummond de Andrade

Dedico ao meu pai, Nadir José do Nascimento (in memoriam), por ter me ensinado a ser uma pessoa forte e a valorizar as coisas simples da vida. Durante muito tempo você foi a única pessoa que podia me escutar e entender. Sinto muito a sua falta.

Agradecimentos

À Prof^ª. Teresa Cristina, pela orientação e amizade. Obrigada pela oportunidade, pela confiança e paciência.

À Prof^ª. Marta Verardino De Stéfani, pela oportunidade, atenção e colaboração.

Ao Prof. Euclides Braga Malheiros pela preciosa ajuda na análise estatística dos dados.

À Fri-Ribe, na pessoa de Daniela Nomura e Marcelo Toledo pela doação da vitamina E.

À técnica do Laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV-UNESP Jaboticabal, Cláudia Aparecida Rodrigues (Claudinha) pela grande ajuda e auxílio no processamento das amostras de microscopia eletrônica.

À Prof^ª. Laura Satiko Okada Nagashi e ao Histotécnico Orandi Mateus, do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (FCAV-UNESP Jaboticabal), pela atenção e valiosa ajuda.

Aos companheiros de laboratório, Márcio e Munir, pelas experiências compartilhadas e por estarem presentes sempre que precisei.

Aos professores Dr. Sérgio Batlouni e Dr^ª. Fabiana Pilarski pela colaboração durante a revisão de literatura.

Aos amigos do Laboratório de Patologia Róberson e Zé Bob, pela ajuda e pelo empréstimo de material.

Aos amigos do Laboratório de Reprodução de Espécies Nativas, Thiago e Mário, por ajudarem nas coletas finais.

À família Hainfellner, Rosa e Carlos (in memorian), por todo o carinho e pelos bons momentos.

À minha amiga Rosângela Fernandes, companheira de todas as horas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura e ao Centro de Aqüicultura da Unesp (CAUNESP), através de seus docentes e funcionários, por possibilitarem a realização deste trabalho.

À Fundação para o Desenvolvimento da Unesp (FUNDUNESP) pelo apoio financeiro.

Aos professores Dr. Luiz Edivaldo Pezzato e Dra. Elizabeth Romagosa, pela colaboração desde o início desse trabalho.

Ao meu namorado Patrick Hainfellner, pela amizade, companheirismo, paciência e oportunidade de sonhar e aprender a cada dia um pouco mais ao seu lado. TE AMO!

A todos que de alguma maneira contribuíram com este trabalho...

OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

SUMÁRIO DE TABELAS	i
SUMÁRIO DE FIGURAS	ii
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
Tilápia e biologia reprodutiva	1
Relação entre nutrição e reprodução	4
Radicais Livres e Antioxidantes.....	5
Vitamina E	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

CAPÍTULO II

RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL e MÉTODOS	30
Reprodutores e delineamento experimental	30
Dietas experimentais	31
Coletas amostrais e parâmetros analisados	32
Análise estatística.....	34
RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	34
Parâmetros produtivos.....	34
Parâmetros Reprodutivos	36
Volume da desova, produção, peso e diâmetro dos ovos.....	36
Frequência reprodutiva, taxa de fertilização e eclosão	39
Índice de desova, índice gonadossomático e fecundidade	40
Sobrevivência e número de larvas.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

SUMÁRIO DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição da dieta comercial para reprodutoras de tilápia-do-nilo.....31

Tabela 2. Médias dos parâmetros produtivos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.....35

Tabela 3. Média dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.....37

SUMÁRIO DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Volume de ovos de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....36
- Figura 2.** Número de ovos de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....38
- Figura 3.** Taxa de eclosão de ovos de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....40
- Figura 4.** Índice de desova de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....41
- Figura 5.** Fecundidade relativa e total de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....41
- Figura 6.** Taxa de sobrevivência de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....42
- Figura 7.** Número de larvas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.....43

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Tilápia e biologia reprodutiva

A tilápia é um peixe teleósteo, da ordem dos Perciforme pertencente à família dos ciclídeos, originários da África e amplamente cultivado em cerca de 100 países no mundo (Romana-Eguía et al., 2004). Cerca de 22 espécies de tilápia são cultivadas no mundo, porém a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia mossâmbica (*O. mossambicus*), a tilápia azul (*O. aureus*), além de *O. macrochir*, *O. hornorum*, *O. galilaeus*, *Tilapia zillii* e a *T. rendalli* são as espécies mais criadas comercialmente (El-Sayed, 2006).

Entre as espécies de peixes mais cultivadas, a tilápia-do-nilo é a que melhor resiste a altas temperaturas, baixa concentração de oxigênio dissolvido, alta concentração de amônia na água, condições ambientais adversas, altas densidades, tem rápido crescimento, é capaz de utilizar a produtividade primária dos viveiros e pode ser manipulada geneticamente (Popma & Phelps 1998). De acordo com Lahav & Ra'nam (1997) sua principal vantagem é o baixo custo relativo, principalmente no que se refere à produção de alevinos, alimentação e qualidade da sua carne.

A tilápia-do-nilo destaca-se como peixe de potencial para aquicultura, visto a sua rusticidade, hábito alimentar onívoro, aceitação de rações com grande facilidade (desde o período de pós-larva até a fase de terminação) e adaptação ao confinamento (Boscolo et al., 2001).

Em 2005, a produção mundial de tilápias foi de 1,53 milhões de toneladas, tendo crescido 8,1% em relação ao ano anterior e representou 9,5% da produção total de espécies aquícolas (FAO, 2008). Desde 2002 a tilápia tem sido o peixe mais cultivado do Brasil. Sua produção em 2004 representou 64% da produção total de espécies aquícolas e 67% em receitas geradas pelo cultivo da mesma na América do Sul; seguido pela Colômbia com uma produção de 26% (Boscardin, 2008).

A criação em cativeiro permitiu melhor acompanhamento de sua eficiência reprodutiva. Em condições de cultivo favorável, a tilápia pode atingir a maturidade sexual com peso em torno de 150 a 250g, mas alguns trabalhos mostram tilápias com peso médio de 30g aptas a reprodução (De Graaf et al., 1999; Mansour, 2001; El-Sayed et al., 2003). A tilápia apresenta reprodução parcelada, com várias desovas anuais e ciclos reprodutivos relativamente curtos. Suas principais características reprodutivas são a alta fecundidade com 100 a 3000 ovos produzidos por desovas (Duponchelle & Legendré, 1997), com tamanho entre 2 e 7,9mm (De Graaf et al., 1999).

O intervalo entre desovas é influenciado pela linhagem, tamanho do peixe, densidade de estocagem, proporção macho/fêmea, estado nutricional, condições de cultivo e fatores ambientais (El-Sayed, 2006). Imediatamente após a desova, a recrudescência do ovário é muito rápida, os ovócitos pré-vitelogênicos são recrutados para vitelogênicos, tornando-se maduros, pronto para serem liberados, exigindo do organismo elevadas taxas metabólicas para suportar a rápida formação do ovócito, garantindo a produção de ovos e larvas de qualidade com bom desempenho produtivo.

Em tilápia estima-se que todo esse processo ocorre em uma semana (Coward & Bromage, 2000). Estudos têm indicado que a remoção de ovos e larvas da boca das fêmeas, em intervalo de quatro dias, acelera a vitelogênese e diminuem em 37,5% o período entre as

desovas quando comparados a fêmeas que permaneciam com os ovos naturalmente. (Mair et al., 1993; Tacon et al., 1996).

Estudos mostram que na tilápia-do-nilo a fertilização dos ovos ocorre dentro da boca das fêmeas. Mansour (2001) observou que a fêmea depositava os ovos no chão do aquário e imediatamente coletava-os para a cavidade oral. O macho, por sua vez, fazia a abertura do orifício da papila genital liberando líquido seminal sobre a fêmea e, a mesma começava a sugar para dentro da boca. Esse processo demorava em torno de 4 a 6 minutos, e, em seguida, a fêmea se retirava do local da desova. Observações similares foram feitas por Myers et al. (1995) e Freitas & Nishida (1998).

Atualmente existem várias programas de melhoramento genético da tilápia-do-nilo. Dentre estes, podemos citar a “GIFT” (Genetic Improvement of Farmed Tilapia) que consiste em um estoque desenvolvido através de combinações de espécies e seleções dentro da espécie, que engloba o GIFT-GST ou GIFT-Genomar Supreme Tilapia (Gjoen, 2005). O projeto GIFT foi criado com o objetivo de se estudar os parâmetros genéticos sobre crescimento, tamanho de primeira maturação, sobrevivência, resistência a doenças, cor da pele, conformação corporal e tolerância ao frio (El-Sayed, 2006).

Estudos revelam que a herdabilidade para o crescimento foi de 0,24 e alcançou 13% de ganhos genéticos nas cinco gerações de seleção, fornecendo uma estimativa de aumento cumulativo de 64 a 85% na taxa de crescimento em comparação a base populacional a partir da qual foram selecionadas (Bolívar & Newkirk, 2002; Eknath et al, 2007; Khaw et al., 2008). Sua taxa reprodutiva, taxa de crescimento, sobrevivência, rendimento e qualidade dos filés fazem da GIFT uma linhagem muito atraente e promissora capaz de aumentar a produção e a exportação para mercados nos países em desenvolvimento (El-Sayed, 2006).

Relação entre nutrição e reprodução

Os níveis nutricionais podem afetar o desenvolvimento e a função dos órgãos reprodutivos, além de acarretar alterações do funcionamento do sistema endócrino envolvido com a reprodução (Maggioni et al., 2008).

A nutrição influencia a fertilidade, diretamente através do fornecimento de nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação em ruminantes; e, indiretamente, atuando sobre as concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos (Robinson et al., 2006).

Para o crescimento e desenvolvimento embrionário normal de peixes, todos os componentes nutricionais necessários devem estar presentes no interior do ovo. Apesar do fato de que os ovos absorvem alguns nutrientes diretamente da água para formação do vitelo, uma maior fonte de nutrientes é necessária para um bom desenvolvimento embrionário do peixe (El-Sayed, 2006). Seu fornecimento e utilização começam com a dieta materna, e ainda depende da eficácia de deposição dos mesmos no ovo. A variação genética, a absorção e o metabolismo dos reprodutores foram, há muito, reconhecidos como fatores de efeito da deposição dos nutrientes no ovo sobre a viabilidade embrionária (Hossain et al., 1998).

De acordo com Schreck et al. (2001), fêmeas reprodutoras de diferentes espécies de peixes, quando submetidas a estresse fisiológico, ambiental, de manejo e, particularmente nutricional, acabam produzindo ovos com reduzida eclodibilidade e, larvas e alevinos pouco saudáveis, além de produzir descendentes frágeis, com menor capacidade de sobrevivência, apresentando maior número de deformidades e, com alta taxa de mortalidade. Esses fatores

induzem a formação de radicais livres pela oxidação dos ácidos graxos componentes da membrana plasmática e que exercem função energética na célula (Souza & Ferreira, 2007).

Um mecanismo pelo qual os agentes estressores podem afetar a capacidade reprodutiva é pela resposta hormonal, pois aumentos dos níveis de cortisol afetam indicadores reprodutivos como níveis circulantes de esteróides gonadais, gonadotrofinas e vitelogenina, além da perda de peso corporal, índice gonadossomático, tamanho de oócitos e concentração tecidual de gonadotrofinas, na pituitária (Pottinger et al., 1999).

Radicais Livres e Antioxidantes

A oxidação é um processo químico onde alguma substância reage com oxigênio. No corpo humano, a oxidação é uma ocorrência frequente porque depende do oxigênio que é transportado no corpo pelo sangue. Para combater os efeitos da oxidação, o organismo desenvolveu um número variável de antioxidantes (Kurilla, 2001). Esses antioxidantes podem agir enzimaticamente, a exemplo da Se-glutationa peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD₂) ou, não enzimaticamente a exemplo de glutathione (GSH), peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico e citocromo c redutase (CoQH₂) (Barreiros et al., 2006).

Durante o metabolismo, são produzidos diversos oxidantes conhecidos como radicais livres (RLs). Esses são moléculas orgânicas e inorgânicas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente (Halliwell, 1994). É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas (Ferreira & Matsubara, 1997). O mais simples é representado por um átomo de hidrogênio com um próton e um único elétron.

O oxigênio é o principal fornecedor de RLs seguido pelo superóxido, radicais hidroxila, óxido nítrico e ácido hipoclorito. Diversos componentes celulares contribuem para a geração de RLs, como as mitocôndrias (respiração celular), retículo endoplasmático, hemoproteínas, flavinas, hidroquinonas, catecolaminas, granulócitos polimorfonucleares, e diversas enzimas como a xantina oxidase, NADH oxidases, entre outras (Monteiro, 2006). São produzidos principalmente por eosinófilos, neutrófilos e células endoteliais. Os principais indutores de sua produção pelos neutrófilos são os microorganismos fagocitados, contribuindo também para a liberação, em menor escala, dos complexos imunes, o ácido aracdônico, os leucotrienos e o fator de ativação plaquetária (Leite & Sarni, 2003).

Baixas concentrações de RLs têm importância na modulação de inúmeros processos fisiológicos do trato reprodutivo de fêmeas, como a maturação oocitária, a atresia folicular, a função do corpo lúteo, a interação gamética, a fertilização, o desenvolvimento e a implantação embrionária, bem como o declínio da fertilidade relacionado à idade (Vieira et al., 2007).

A produção contínua de RLs durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidantes para limitar os níveis intracelulares destes e impedir a indução de danos (Sies, 1993). Essa produção, em condições fisiológicas normais, está em equilíbrio com a ação destes sistemas de defesas para a manutenção da homeostase redox, o que é essencial para a integridade e a saúde dos organismos (Valavanidis et al., 2005).

Na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Cerutti, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (Sies, 1993). O estresse oxidativo é definido como um acúmulo de espécies reativas de oxigênio que causam danos à

estrutura das biomoléculas de DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, além de outros componentes celulares. Processos endógenos e exógenos são conhecidos como promotores de RLs, sendo potencialmente capazes de levar ao estresse oxidativo (Nunes et al., 2006).

Por definição, uma substância antioxidante é aquela capaz de diminuir ou inibir os processos de oxidação, mesmo quando presente em baixas concentrações (Monteiro, 2006). Do ponto de vista biológico, podemos definir antioxidantes como aqueles compostos que protegem os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios dos processos ou das reações que levam à oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares. Isto implica que os diferentes antioxidantes podem atuar em diferentes níveis e com modos de ação distintos. Os antioxidantes podem, teoricamente, prolongar a fase de iniciação ou então inibir a fase de propagação, mas não podem prevenir completamente a oxidação (Andrade Junior et al., 2005).

De acordo com Bianchi & Antunes (1999), os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos: a) o primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre; b) os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres; c) outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas; d) em algumas

situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes.

Os organismos eucariotos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase que reagem com os compostos oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (Traber, 1997). As defesas antioxidantes, chamadas a restabelecer o equilíbrio permitem ao organismo tolerar o estresse oxidativo leve e moderado; a presença de doença e desnutrição rompe este equilíbrio e provoca estresse grave, com alterações do metabolismo celular, lesão do DNA e dos transportadores de íons das membranas celulares, elevação de cálcio e ferro ionizados e peroxidação lipídica. Estes eventos, que contribuem para a progressão da inflamação sistêmica, culminam em morte celular e disfunção de múltiplos órgãos (Leite & Sarni, 2002).

Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes na dieta é de grande importância e está relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de RLs (Pompella, 1997). Os antioxidantes podem ainda aumentar a imunidade pela manutenção da integridade funcional e estrutural de importantes células imune. Um comprometimento do sistema imune resultará em redução da eficiência produtiva pelo aumento da susceptibilidade a doenças, induzindo um aumento de morbidade e mortalidade animal (McDowell, 2002).

Os metais de transição Fe, Cu e Mn, que aparecem em várias etapas do processo de oxidação, na forma livre, podem participar na transferência de elétrons para outros compostos, dando origem a radicais livres. Por outro lado, são partes funcionais dos centros redox de enzimas antioxidantes, sendo classificados como nutrientes antioxidantes. In vivo, esses metais são normalmente vinculados a proteínas, tais como ferritina e metalotioneína para

impedi-los de agir como pró-oxidantes, mas em grandes quantidades, especialmente Fe e Cu, podem causar peroxidação lipídica (Berntssen et al. 2000).

As vitaminas C e E atuam como antioxidantes na fase aquosa e lipídica, respectivamente, do tecido animal. A vitamina E tem a capacidade de impedir a propagação das reações em cadeia induzidas pelos radicais livres nas membranas biológicas (Traber & Packer, 1995).

Vitamina E

A vitamina E é um componente dos óleos vegetais encontrada na natureza em quatro formas diferentes α , β -, γ - e δ -tocoferol que se diferenciam pelo número e posição do grupo metila, ligado ao anel fenólico, sendo o α -tocoferol a forma antioxidante amplamente distribuída nos tecidos e no plasma. Descoberta em 1922 e descrita como fator nutricional considerado especialmente importante na reprodução animal, e sua substância mais ativa, chamada de tocoferol, foi isolada em 1936 por Evans (Quinn, 1999).

Os isômeros do tocoferol também contêm uma cadeia lateral fítica, que contribui muito pouco na atividade antioxidante, entretanto a presença desta cadeia facilita a incorporação e retenção do α -tocoferol nas biomembranas (Chan & Decker, 1994). Essa cadeia pode ser saturada, no caso dos tocoferóis, ou insaturada, no caso dos tocotrienóis, perfazendo, então, oito homólogos naturais da vitamina E, que diferem em sua estrutura e atividade biológica (Jordão Júnior, 1998). Todas essas moléculas possuem atividade antioxidante, todavia o α -tocoferol tem sido considerado quimicamente e biologicamente mais ativo (Schneider, 2005).

A vitamina E dietética é absorvida sob a forma não esterificada no intestino delgado, incorporada a quilomícrons e secretada na circulação linfática intestinal. A enzima lipase lipoprotéica hidrolisa os triacilgliceróis nos quilomícrons e promove a formação de remanescentes de quilomícrons, que são captados pelo fígado via receptor específico para a apolipoproteína- E, localizado nas células parenquimais responsáveis pela secreção de vitamina E em associação com as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). A vitamina E, associada à quilomícrons e VLDL, é, provavelmente, transferida às células periféricas e às lipoproteínas de alta densidade (HDL) durante o processo de lipólise. No metabolismo da VLDL, uma parte da vitamina se associa à LDL e segue os mecanismos de captação de LDL, tanto nas células parenquimais hepáticas quanto nas células periféricas (Jordão Júnior et al., 1998).

O fato de ser lipossolúvel confere ao α -tocoferol a propriedade de se acumular no interior das membranas e de ser transportado pelas lipoproteínas, especialmente pela lipoproteína de baixa densidade (LDL). O α -tocoferol da dieta é armazenado em vários tecidos e órgãos, especialmente no fígado, tecido adiposo e músculo. A excreção do α -tocoferol metabolizado é pouco conhecida, podendo ocorrer pelas fezes, pela via biliar ou pela pele (Chan & Decker, 1994).

O conteúdo de vitamina E determina a susceptibilidade das membranas microssomais, da LDL, hepatócitos e órgãos, em resposta ao dano provocado pelos radicais hidroxilas, alcóxila, peróxila, oxigênio singleto e por alguns complexos entre os metais e o oxigênio. Estes agentes oxidantes não somente danificam os lipídios, mas produzem intermediários secundários, os hidroperóxidos lipídicos, que podem ser decompostos em radicais peróxila e alcóxila, levando a uma cadeia ininterrupta de reações de peroxidação lipídica. Os tocoferóis

atuam, principalmente, na proteção aos lipídios contra os radicais peroxila (Di Mascio et al., 1991).

Sendo muito intenso o processo de lipoperoxidação, o α -tocoferol da membrana poderia ser totalmente convertido no radical tocoferoxila, perdendo sua ação como antioxidante. Entretanto, o radical tocoferoxila é regenerado por substâncias, como a vitamina C e a ubiquinona, entre outras, sendo, novamente, reduzido a α -tocoferol (Packer, 1991). A inibição da oxidação da LDL pela HDL é comumente atribuída ao seu conteúdo de antioxidante, entre eles o α -tocoferol (Lima & Couto, 2006). Outros efeitos fisiológicos do α -tocoferol incluem a alteração da fluidez da membrana, o aumento da função imune, a redução da mortalidade causada pela isquemia do coração, juntamente com a agregação plaquetária e a formação de coágulos (Liebler, 1993).

Um dos produtos formados na utilização do α -tocoferol, no processo de peroxidação lipídica, o α -tocoferilquinona é considerado um excelente anticoagulante e pode ser o responsável pelos efeitos benéficos do α -tocoferol na prevenção de enfartos do miocárdio e ataques cardíacos. Quando administrado em seres humanos, o α -tocoferilquinona é transformado em α -tocoferol (Moore & Ingold, 1997). A ingestão de 350 mg de α -tocoferol, em humanos, resulta na formação de α -tocoferoxil hidroquinina, que é posteriormente reduzido pela ubiquinona (Kohar, 1995). Os animais são incapazes de sintetizar o α -tocoferol, sendo dependentes das fontes dietéticas que incluem farinha de alfafa, farinha de gérmen de trigo (100-125 mg kg⁻¹), ovo, farelo de arroz (75-100 mg kg⁻¹), trigo (50-75 mg kg⁻¹), levedura seca, resíduo de destilaria, farelo de soja, grão de milho, farinha de glúten de milho, sorgo, farinha de peixe, aveia, farinha de semente de girassol, farelo de algodão, além dos óleos vegetais (FAO, 2008).

Evidências recentes sugerem que essa vitamina impede ou minimiza os danos provocados pelos radicais livres associados com doenças específicas, incluindo o câncer, artrite, catarata e o envelhecimento (Heinonen et al., 1998). Os principais sinais de deficiência desse nutriente são: baixa sobrevivência, deficiência no crescimento, anemia, ascite, eritrócitos imaturos, variabilidade no tamanho dos eritrócitos, fragilidade e fragmentação eritrocitária, distrofia muscular nutricional, aumento de água corporal, epicardites e depósitos de ceróides no baço e no fígado. Várias condições degenerativas em células inespecíficas foram descritas em algumas espécies de peixes alimentados com grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados com inadequado nível de tocoferol na ração. Hipervitaminose E envolve fraco crescimento, toxicidade hepática e morte em carpas (Halver, 2002).

A função antioxidante reveste-se de grande importância quando falamos da influência que exerce sobre a arquitetura das membranas dos fosfolípidios (McDowell, 1989) e pela proteção à oxidação dos ácidos graxos polinsaturados (PUFAs), que são os constituintes primários das membranas celulares e precursores das prostaglandinas (inibindo a peroxidação do ácido araquidônico). A vitamina E tem uma função coaguladora atuando na agregação das plaquetas e na formação das prostaglandinas. Tem sido sugerido que os tocoferóis desempenham um papel importante na respiração celular e na síntese de DNA e coenzima Q (FAO, 2007). A suplementação com vitamina E diminui a reabsorção da matriz óssea e estimula a sua proliferação em mamíferos, através da inibição das citocinas IL 1 e 6 (Lall & McCrea, 2007).

Em peixes, a vitamina E é utilizada na suplementação de dietas com a finalidade de melhorar o crescimento, a resistência ao estresse e o sistema imunológico. Também pode ser eficiente na conservação do pescado durante o processamento e estocagem, inibindo a degradação dos lípidios pela oxidação (Lim & Webster, 2001).

A interação da vitamina E da dieta com o sistema antioxidante dos peixes foi observada por Tocher et al. (2002), onde a menor quantidade de vitamina E nas dietas levou a diminuição de seus níveis nos músculos e ao aumento da atividade oxidante do organismo, produzindo altos níveis de peróxidos lipídicos. Tilápias alimentadas com dietas suplementadas com 500 mg kg⁻¹ de vitaminas C e E apresentaram redução no número total de neutrófilos circulantes no sangue (Martins et al., 2008).

Segundo o NRC (1993), o mínimo de vitamina E exigido para os peixes em geral é de 30 mg kg⁻¹ da dieta, e para tilápias é maior, de 50-100 mg kg⁻¹ de ração. Porém, Shiau & Shiau (2001) observaram que tilápias alimentadas com dietas contendo 5 e 12% de lipídios necessitavam de 40-44 e 60-66 mg kg⁻¹ de vitamina E na dieta, respectivamente.

Poucos estudos têm sido realizados com o intuito de demonstrar a melhoria na eficiência reprodutiva através da suplementação de vitamina E da nutrição dos reprodutores de peixes.

O α -tocoferol é uma substância essencial para a reprodução de peixes, principalmente, por estar envolvido na permeabilidade da membrana embrionária e eclosão dos ovos. Foi relatado para o ayu *Plecoglossus altivelis* que o número de ovos foi reduzido por uma insuficiência de α -tocoferol na dieta e as taxas de fertilização e eclosão foram menores (Takeuchi et al., 1981).

A secreção pela fêmea de uma fosfolipoglicoproteína específica chamada vitelogenina durante a reprodução é detectada em muitas espécies de peixes, como *Oncorhynchus keta* e *Paralichthys olivaceus*. A vitelogenina é produzida na hemolinfa e é captada pelos oócitos por endocitose mediada por receptores para formar a principal proteína do vitelo, as vitelinas que são lipoglicoproteínas de alta densidade. Essas duas proteínas, vitelogenina e vitelina, são

responsáveis pelo transporte de substâncias, como o tocoferol, do ovário para os ovócitos durante a maturação sexual (Ando & Hatano, 1986; Tokuda et al., 2000).

Tokuda et al. (2000) trabalhando com α -tocoferol durante a reprodução de *Paralichthys olivaceus* mostraram que o nível desse nutriente nos ovários foi geralmente superior ao dos testículos, e que o mesmo promoveu o desenvolvimento gonadal durante todo o período reprodutivo e também estimulou a desova nesses peixes.

Níveis de suplementação de α -tocoferol de 80 a 320 mg kg⁻¹ na ração estimula o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos em cabras da raça Boer (Hong et al., 2008). A administração de vitamina E, ácido ascórbico e sua combinação na ração causou uma redução significativa na geração de espécies reativas de oxigênio e aumento da atividade da glutathione S-transferase, apresentando, assim, melhorias significativas nas características espermáticas de coelhos (Yousef et al., 2003). Estudos mostram que tanto a suplementação na ração quanto a injeção direta de α -tocoferol nos ovos de matrizes poedeiras aumentou o desempenho produtivo e as respostas imunes das progênes (Hossain et al., 1998). Em trabalhos com cães a vitamina E mostrou-se eficiente diluidor seminal, além de proporcionar maior benefício na criopreservação seminal (Michael et al., 2008).

Assim, estudos referentes à suplementação com vitamina E nas dietas de reprodutores, podem contribuir para o sucesso da reprodução e garantir a produção de um maior número de larvas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ando, A & Hatano, M. (1986) Carotenoids in the egg yolk protein of chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Agricultural and Biological Chemistry* **50**, 1043– 1044.

- Andrade Júnior, D.R., Souza, R.B. & Santos, S.A. (2005) Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* **31**, 60-68.
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M. & David, J. P. (2006) Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* **26** (1), 113-123.
- Bianchi, M. L. P. & Antunes, L. M. G. (1999) Free radicals and the main dietary antioxidants. *Revista de Nutrição* **12**, 123-130.
- Berntssen, M.H.G., Lundeby, A.-K. & Hamre, K. (2000) Tissue lipid peroxidative responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed high levels of dietary copper and cadmium. *Fish Physiology Biochemistry* **23**, 35–48.
- Bolivar, R.B. & Newkirk, G.F. (2002) Response to within family selection for body weight in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a single-trait animal model. *Aquaculture* **204**, 371–381.
- Boscardin, N. R. (2008) A produção aquícola brasileira: tilapicultura. Páginas 55-56 em *Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Ostrensky, A., Borghetti, J.R. & Soto, D. (eds). FAO, Brasília, BR.
- Boscolo, W. R., Hayashi, C., Soares, C. M., Furuya, W. M. & Meurer, F. (2001) Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias-do-nilo (*Oreochromis*

niloticus), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* **30**(5), 1391-1396.

Coward, K. & Bromage, N.R. (2000) Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Review Fish Biology and Fisheries* **10**, 1–25.

Chan, W.K.M. & Decker, E. A. (1994) Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews Food Science Nutrition* **34**, 403-426.

De Graaf, G.J., Galemoni, F. & Huisman, E.A. (1999) Reproductive biology of pond-reared Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* **30**, 25–33.

Di Mascio, P., Murphy, M.C. & Sies, H. (1991) Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. *American Journal of Clinical Nutrition* **53**, 194- 200.

Duponchelle, F. & Legendre, M. (1997) Influence of space structure on reproductive traits of *Oreochromis niloticus* females. Páginas 305–314 em *Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Fitzsimmons, K., ed. Orlando, FL, USA.

Ek Nath, A., Bentsen, H., Ponzoni, R., Rye, M., Nguyen, N. H., Thodesen, J. & Gjerde, B. (2007) Genetic improvement of farmed tilapias: Composition and genetic parameters of a synthetic base population of *Oreochromis niloticus* for selective breeding. *Aquaculture* **273**, 1-14.

- El-Sayed, A.-F.M. (2003) Effects of fermentation methods on the nutritive value of water hyacinth for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture* **218**, 471–478.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia Culture*. CABI Publishing, Massachusetts, USA.
- FAO. (2007) *Nutricion y alimentacion de peces y camarones cultivados: Manual de capacacitacion*. Roma, Itália.
- FAO. (2008) *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma, Itália.
- Ferreira, A. L. A. & Matsubara, L. S. (1997) Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira* **43**, 61-81.
- Freitas, E. G. & Nishida, S.M. (1998) Sneaking behaviour of the Nile tilapia. *Boletim Técnico do Cepta* **11**, 71–79.
- Gjoen, H.M. (2001) GIFT program continues. Distribution of fast-growing tilapia to expand. Página 44 em *The Global Aquaculture Advocate*. Global Aquaculture Alliance, St Louis, MO, USA.
- Halliwell, B. (1994) Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews* **52**, 253-265.

- Halver, J.E. (2002) Vitamins. In: *Fish Nutrition*, (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds), 3 ed., pp. 671–702. Academic Press, San Diego, USA.
- Heinonen, O.P., Albanes, D., Virtamo, J., Taylor, P.R., Huttunen, J.K., Hartman, A.M., Haapakoski, J., Malila, N., Rautalahti, M., Ripatti, S., Maenpaa, H., Teerenhovi, L., Koss, L., Virolainen, M. & Edwards, B.K. (1998) Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta--carotene: incidence and mortality in controlled trial. *Journal of the National Cancer Institute* **90** (6), 440-446.
- Hong, Z., Hailing, L., Hui, M. & Guijie, Z. (2008) Effect of vitamin E supplementation on development of reproductive organs in Boer goat. *Animal Reproduction Science*, 1-9.
- Hossain S.M., Barreto, S.L., Bertechini, A.G., Rios, A.M. & Silva, C.G. (1998) Influence of dietary Vitamin E level on egg production of broiler breeders, and on the growth and immune response of progeny in comparison with the progeny from eggs injected with Vitamin E. *Animal Feed Science Technology* **73**, 307-317.
- Huang, C. H. & Huang, S. L. (2004) Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *O. niloticus* X *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture* **237**, 381-389.
- Jordão, J.R, Afonso, A., Silveira, S., Figueiredo, J. F. C. & Vannucchi, H. (1998) Urinary excretion and plasma vitamin E levels in patients with AIDS. *Nutrition* **14**, 423-426.

- Khaw, H. L.; Ponzoni, R. W. & Danting, M. J. C. (2008) Estimation of genetic change in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by comparing contemporary progeny produced by males born in 1991 or in 2003. *Aquaculture* **275**, 64-69.
- Kohar, I., Baca, M., Suarna, C., Stocker, R. & Southwell-Keely, P. (1995) Is a α -tocopherol a reservoir for α -tocopheryl hydroquinone. *Free Radical Biology & Medicine* **19**, 197-207.
- Kurilla, M. G. (2001) The value of antioxidants: vitamin E. *Naturally Ripped News*.
- Lahav, E. & Ra'nan, Z. (1997) Salinity tolerance of genetically produced tilapia (*Oreochromis*) hybrids. *Israeli Journal Aquaculture* **49**(3), 160-165.
- Lall, S. P. & Lewis-McCrea, L. M. (2007) Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish, an overview. *Aquaculture* **267**, 3-19.
- Leite, H.P. & Sarni, R.S. (2003) Radicais livres, antioxidantes e nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* **18**(2), 87-94.
- Liebler, D.C. (1993) The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Critical Reviews Toxicology* **23**, 147-169.
- Lim, C. & Webster, C.D. (2001) *Nutrition and fish health*. The Haworth Press, Binghamton, NY.

- Lima, E. S. & Couto, R. D. (2006) Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* **42** (3), 169-178.
- Maggioni, D., Rotta, P. P., Ito, R. H., Marques, J. A., Zawadzki, F., Prado, R. M. & Prado, I. N. (2008) Influência da proteína sobre a reprodução animal: uma revisão. *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia* **2**, 105-110.
- Mair, G.C., Estabillo, C.C., Sevilleja, R.C. & Recometa, R.D. (1993) Small-scale fry production systems for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture and Fisheries Management* **24**, 229–235.
- Mansour, C.R. (2001) *Nutritional requirements of Nile tilapia broodstock reared at different water salinities*. Tese (Doutorado), Universidade de Alexandria, Alexandria, Egito.
- Martins, M. L., Miyazaky, D. M. Y., Moraes, F. R., Ghiraldeli, L., Adamante, W. B. & Mourino, J. L. P. (2008) Ração suplementada com vitaminas C e E influência a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. *Ciência Rural* **38**, 213-218.
- Mcdowell, L.R. (1989) *Vitamins in animal nutrition – Comparative aspects to Human nutrition*. Academy Press, California.
- Mcdowell, R. L. (2002) Recent advances in minerals and vitamins on nutrition of lactating cows. *Pakistan Journal of Nutrition* **1** (1), 8-19.

Monteiro, D. A. (2006) *Efeitos do inseticida organofosforado metil paration (Folisuper 600 BR®) sobre biomarcadores do estresse oxidante no teleósteo de água doce matrinxã Brycon cephalus (Günther, 1869) e o papel da suplementação de selênio na dieta.* Dissertação (mestrado), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

Moore, A. N.J. & Ku, I. (1997) α -Tocoferyl quinone is converted into vitamin E in man. *Free Radical Biology & Medicine* **22**, 931-934.

Myers, J.M., Penman, D.J., Basavaraju, Y., Powell, S.F., Baoprasertkul, P., Rana, K.J., Bromage, N. & McAndrew, B.J. (1995) Induction of diploid androgenetic and mitotic gynogenetic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Theoretical and Applied Genetics* **90**, 205–210.

NRC. (1993) *Nutrient requirements of fish*, pp. 56. Academic Press, Washington, USA.

Nunes, E., Oliveira, S. C. & Morais, R. N. (2006) Radicais livres: conceito, doenças, estresse oxidativo e antioxidantes. *Open Journal Systems* **1**, 6, 1-32.

Packer, L. Protective role of vitamin E in biological systems. (1991) *American Journal of Clinical Nutrition* **53**, 1050-1055.

Pompella, A. (1997) Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research* **67**, 5, 289-297.

- Popma, T.J. & Phelps, R.P. (1998) Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: *Aquicultura Brasil*, pp. 127-145 Anais da Associação Brasileira de Aqüicultura, Recife, BR.
- Pottinger, T.G., Yeomans, W.E. & Carrick, T.R. (1999) Plasma cortisol and 17b-estradiol levels im roach exposed to acute and chronic stress. *Journal Fish and Biology* **54**, 525-532.
- Quinn, P. J. & Wang, X. (1999) Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research* **38**, 309-336.
- Robinson, J.J., Ashworth, C.J., Rooke, J.A., Mitchell, L.M. & Mcevoy, T.G. (2006) Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology* **126**, 259–76.
- Romana-Eguia, M.R.R., Ikeda, M. & Basiao, Z.U., Taniguchi, N. (2004) Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* **236**, 131–150.
- Schneider, C. (2005) Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research* **49**, 7-30.
- Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W. & Fitzpatrick, M. S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* **197**, 3-24.

- Shiau, S.Y. & Shiau, L.F. (2001) Reevaluation of the vitamin E requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Animal Science* **72**, 529– 534.
- Sies, H. (1993) Strategies of antioxidant defence: Review. *European Journal of Biochemistry* **215** (2), 213- 219.
- Souza, J. D. S. & Ferreira, W.M. (2007) O papel da vitamina E na nutrição e reprodução animal - meios de defesa contra os radicais livres. *Nutritime* **4** (3), 456-461.
- Tacon, P., Ndiaye, P., Cauty, C., Le Menn, F. & Jalabert, F. (1996) Relationships between the expression of maternal behavior and ovarian development in the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **146**, 261–275.
- Takeuchi, M., Ishii, S. & Ogiso, T. (1981) Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution, and mortalities of the fertilized eggs and fry in Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory* **104**, 11–112.
- Tocher, D.R., Mourente, G., Van Der Eecken, A., Evjemo, J.O., Diaz, E., Bell, J. G., Geurden, I., Lavens, P. & Olsen, Y. (2002) Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition* **8**, 195-207.

- Tokuda, M., Yamaguchi, T., Wakui, K., Sato, T., Ito, M. & Takeuchi, M. (2000) Tocopherol affinity for serum lipoproteins of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* during the reproduction period. *Fisheries Science* **66**, 619-624.
- Traber, M. G. & Packer, L. (1995) Vitamin E - beyond antioxidant function. *Journal of Clinical Nutrition* **62**, 1501-1509.
- Traber, M.G. (1997) Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. *Mineral and Electrolyte Metabolism Basel* **23**, 135-139.
- Yousef, M. I., Abdallah, G. A. & Kamel, K. I. (2003) Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Animal Reproduction Science* **76**, 99-111.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M. (2006) Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology Environmental Safety* **64**, 178-189.
- Vieira, R. C., Barcellos, I., Ferriani, R. A. & Navarro, P. A. A. S. (2007) Oxidative stress and female human reproduction. *Reprodução & Climatério* **22**, 103-111.

Artigo foi redigido conforme as normas de publicação da revista *Aquaculture Nutrition*, ano de 2009.

CAPÍTULO II

Suplementação de vitamina E no desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-nilo

RESUMO

A vitamina E funciona como um antioxidante biológico, protegendo os compostos oxidáveis do citoplasma celular, evitando a formação de lipoperóxidos tóxicos. Em fêmeas sua carência determina parada de crescimento do feto, sua retenção e absorção, com morte do embrião em virtude de distúrbios nas produções mesodérmicas que interrompem a circulação vitelina. Este estudo teve como objetivo verificar o efeito da vitamina E sobre as respostas reprodutivas de fêmeas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Para isso, dietas isoprotéicas (32% PD) e isoenergéticas (3100 kcal kg⁻¹ ED) contendo diferentes níveis de suplementação de vitamina E (200, 300, 400 e 500 mg. Kg⁻¹), foram fornecidas para os grupos de fêmeas (peso médio de 659 ± 121g) por um período de 90 dias. A suplementação de 500 mg influenciou positivamente o volume e o número de ovos produzidos, o índice de desova e a fecundidade relativa e total das fêmeas. Já níveis de suplementação entre 300 e 400 mg afetaram significativamente a taxa de eclosão dos ovos, a sobrevivência e o número de larvas produzidas. A frequência reprodutiva das fêmeas, taxa de fertilização, bem como o peso e diâmetro dos mesmos não foram influenciados pela suplementação da vitamina nas dietas. O presente estudo mostrou que a vitamina E melhorou o desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-nilo, sendo que o nível de inclusão ideal para essa espécie está entre 300 e 500mg kg⁻¹ da dieta.

Palavras-chaves: nutrição, reprodução, ovos, *Oreochromis niloticus*.

Vitamin E on reproductive performance in female tilapia Nile

ABSTRACT

Vitamin E acts as a biological antioxidant, protecting the oxidizable compound the cell cytoplasm, avoiding the formation of toxic lipoperoxide. In females the lack of arrest determines fetal growth, retention and absorption, with embryonic death due to disturbances in the production mesodermal interrupting vitelline circulation. This study aimed to evaluate the effect of vitamin E on reproductive responses of female tilapia (*Oreochromis niloticus*). To do this, isonitrogenous diets (32% DP) and isocaloric (3100 kcal kg⁻¹-ED) with different levels of vitamin E supplementation (200, 300, 400 and 500 mg. Kg⁻¹), were provided to groups of females (average weight 659 ± 121g) for a period of 90 days. The supplementation of 500 mg has positively influenced the volume and number of eggs produced, the index of spawning and the relative fecundity of females and total. Since levels of supplementation between 300 and 400 mg significantly affected the rate of egg hatching, survival and number of larvae produced. The frequency of reproductive females, fertilization rate, and the weight and diameter of them were not influenced by supplementation of vitamin in the diet. This study showed that vitamin E improved the reproductive performance of female tilapia Nile, and the inclusion level ideal for this species is between 300 and 500 mg kg⁻¹ diet.

Keywords: nutrition, reproduction, eggs, *Oreochromis niloticus*

INTRODUÇÃO

O conhecimento das exigências nutricionais dos animais proporciona a elaboração de rações que maximizam o desempenho produtivo e a saúde dos peixes. Entretanto, não há informações que permitam o balanceamento de dietas específicas para reprodutores, as quais têm relação significativa na saúde e eventos reprodutivos, bem como nos alevinos produzidos (Barros et al., 2002).

A melhoria da nutrição e alimentação dos reprodutores afeta diretamente não só a produção de ovos e a qualidade do sêmen, mas também a produção das larvas. O desenvolvimento gonadal e a fecundidade são afetados por certos nutrientes essenciais, especialmente em espécies que apresentam desovas contínuas com períodos curtos de vitelogênese (Izquierdo, 2001).

As vitaminas são elementos de natureza orgânica, cujas estruturas e propriedades são parcialmente destruídas pelos agentes físicos e químicos. Estas substâncias, que o organismo animal não consegue elaborar, são indispensáveis à vida dos seres superiores. Sua ausência (avitaminose) causa distúrbios característicos, geralmente mortais. Sua ação é específica, não sendo as vitaminas substituíveis umas pelas outras ou por substâncias vizinhas. As quantidades diárias necessárias são muito pequenas e não são utilizadas nem como matéria energética, nem como alimento plástico. Sua ação é catalítica dos processos celulares (Andriquetto et al., 1988).

O grupo das vitaminas E é constituído por uma mistura de vitaminas das quais a mais importante é o α -tocoferol que existe na natureza acompanhado de outros compostos, os β -, γ - e δ - tocoferóis e cuja função é a de inibir ou retardar a oxidação de tecido animal, principalmente dos ácidos graxos insaturados e vitamina A. Foi observado que a falta ou deficiência dessa vitamina em animais pode causar, dependendo da espécie, distrofia

muscular, anormalidades no sistema vascular e esterilidade (Bobbio e Bobbio, 1995).

A vitamina E funciona como um antioxidante biológico, protegendo os compostos oxidáveis do citoplasma celular, inibindo a peroxidação das biomembranas e das vitaminas, estabilizando os ácidos graxos insaturados, evitando a formação de lipoperóxidos tóxicos (Andriquetto et al., 1988). É responsável também, pela manutenção da permeabilidade dos capilares e músculos cardíacos. Atua ainda, na respiração celular e na biossíntese de DNA (Pezzato et al., 2004).

O papel da vitamina E da dieta, na fisiologia reprodutiva, especialmente fecundidade e crescimento de crustáceos (especialmente para camarão) foi documentada por Conklin (2000). Tokuda et al. (2000) trabalhando com 1g.kg^{-1} de α -tocoferol durante a reprodução de *Paralichthys olivaceus* mostraram que o nível desse nutriente nos ovários foi geralmente superior ao dos testículos, promovendo o desenvolvimento gonadal durante todo o período reprodutivo e estimulando a desova nesses peixes. Lee e Dabrowski (2004) mostraram que a qualidade do espermatozóide foi afetada positivamente pela vitamina C e E estocada nos tecidos de *Perca flavescens*. A suplementação de vitamina E promoveu aumento na concentração espermática de truta arco-íris (*Onchorynchus mykiss*) (Canyurt & Akhan, 2008).

De acordo com o NRC (1993) a necessidade de vitamina E pela tilápia-do-nylo, na fase de crescimento, é de $50\text{-}100\text{ mg.kg}^{-1}$ da dieta. Poucos estudos têm sido capazes de demonstrar a melhoria da qualidade das larvas através da melhoria na nutrição dos reprodutores. Um aumento de vitamina E na dieta, para níveis de $125\text{ a }190\text{ mg.kg}^{-1}$, impediu o aparecimento de hipertrofia do saco vitelínico e mortalidade larval (Fernandez-Palacios et al., 1998). A suplementação com $0,50\text{ mg.kg}^{-1}$ de selênio orgânico na dieta das matrizes aumentou o ganho de peso e a sobrevivência de larvas de tilápia-do-Nylo (Pereira et al., 2009)

A maioria dos trabalhos com vitamina E não apresenta dados sobre a importância desse nutriente em relação à reprodução de fêmeas e sua atuação sobre os ovos e as larvas. O objetivo do presente estudo foi avaliar os diferentes níveis de inclusão de vitamina E como nutriente na dieta em relação às respostas reprodutivas, de fêmeas de tilápia-do-nilo.

MATERIAL e MÉTODOS

Reprodutores e delineamento experimental

A pesquisa foi realizada na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, no laboratório de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da Unesp (Caunesp), campus de Jaboticabal, São Paulo, no período de 18 de fevereiro a 20 junho de 2009.

Cento e quatro reprodutores de tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus*, linhagem GIFT foram transferidos para o laboratório, mensurados, marcados com microchips e randomicamente distribuídos em quatro tanques circulares de vinilona com capacidade de 7 m³ em sistema de recirculação de água, dotados por filtro mecânico e biológico, aeração contínua e fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. Cada tanque possuía 19 fêmeas (com peso médio de 659 ± 121g e comprimento total de 35,90 ± 1,71 cm) e sete machos (com peso médio de 1004 ± 71,60g e comprimento total de 40,65 ± 0,96 cm).

Os peixes foram estocados nestas condições por um período de 120 dias, sendo 30 dias de aclimação à dieta e às condições experimentais; e 90 dias de período experimental. Durante esse período, os peixes receberam diferentes níveis de inclusão de vitamina E (Rovimix E-50 Adsorbato, Roche®) por quilo da dieta, fornecendo 200 mg kg⁻¹, 300 mg kg⁻¹, 400 mg kg⁻¹ e 500 mg kg⁻¹. A quantidade de 200 mg kg⁻¹ é o nível de suplementação de

vitamina E atualmente utilizada pelas indústrias de rações na formulação de rações para tilápia na fase de engorda e que também são direcionadas para a fase de reprodução.

Semanalmente foram monitorados os seguintes parâmetros de qualidade de água: pH ($7,80 \pm 0,27$), OD ($5,60 \pm 0,97 \text{ mg.L}^{-1}$), nitrito ($81,8 \pm 2,20 \text{ } \mu\text{.L}^{-1}$), amônia ($208,0 \pm 1,30 \text{ } \mu\text{.L}^{-1}$) e temperatura ($27,0 \pm 2,6 \text{ } ^\circ\text{C}$).

Dietas experimentais

A dieta experimental foi composta de uma ração comercial para tilápia-do-nylo, formulada para conter 32% de proteína digestível, $3100 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia digestível e 10% de lipídio em relação à matéria seca (Tabela 1) satisfazendo as exigências nutricionais da tilápia-do-nylo (NRC 1993). A ração foi moída, a quantidade de vitamina E, correspondente a cada tratamento, adicionada. As dietas experimentais foram processadas a frio em máquina de moer carne e os peletes de 6 mm foram secos ao ar livre por 24 h. Todas as dietas foram estocadas a -20°C . Os reprodutores foram alimentados com o correspondente a 2,5% do peso vivo, quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas).

Tabela 1. Composição da dieta comercial para reprodutoras de tilápia-do-nylo

INGREDIENTES	Conteúdo (g.kg^{-1})
Farinha de vísceras de aves	10
Farelo de soja	35
Farelo de trigo	10
Farelo de arroz	10
Farinha de peixe	14
Milho moído	15
Óleo de soja	3,0
Sal (NaCl)	0,5
Fosfato bicálcico	1,5
Premix ¹ vitamínico/mineral	1,0
Total	100
Composição aproximada (calculada)	
Energia bruta	3792

Energia digestível ¹ (kcal.kg ⁻¹)	3100
Proteína bruta (%)	36
Proteína digestível ¹ (%)	32
Lipídio (%)	10

¹ Calculado com base nos valores de energia e proteína digestível apresentados no NRC (1993)

Coletas amostrais e parâmetros analisados

Por um período de 90 dias, em intervalos de quatro dias, todas as fêmeas foram inspecionadas e submetidas ao exame da cavidade bucal para detectar a ocorrência de desovas. Os ovos eram retirados da boca através do contrafluxo da orofaringe das mesmas com o auxílio de uma piceta e colocados em copos descartáveis. As fêmeas desovantes eram identificadas pela leitora de microchip, anestesiadas, pesadas, medidas e devolvidas ao tanque. O desempenho foi avaliado através dos seguintes parâmetros:

- *Ganho de peso (g) = peso final (g) – peso inicial (g)*
- *Taxa de crescimento absoluto (g.dias⁻¹) = $\frac{\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}}{\text{período experimental (dias)}}$*
- *Taxa de crescimento específico (%PVdi^{a-1}) = $\frac{\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso inicial (g)}}{\text{período experimental (dias)}} \times 100$*
- *Eficiência alimentar = $\frac{\text{ganho de peso (kg)}}{\text{peso total de alimento consumido (kg)}}$*
- *Sobrevivência das fêmeas (%) = $\frac{n^\circ \text{ final de fêmeas}}{n^\circ \text{ inicial de fêmeas}} \times 100$*

O volume total da desova foi medido em proveta volumétrica de 25 ml e uma amostra de 1 ml identificada e fixada em formol tamponado para posteriores avaliações. Foram usados 30 ovos de cada coleta para análises morfométricas e pesagem. As análises morfométricas foram realizadas em estereomicroscópio LEICA MZ8 através do programa IM 50 LEICA e o peso

dos ovos em balança digital de precisão. A estimativa do número total de ovos foi feita através do método volumétrico de Vazzoler (1996). Os parâmetros reprodutivos foram avaliados através das metodologias usadas por Coward & Bromage (1999a, 1999b) e Godinho (2007):

- $\text{Índice de desova (\%)} = \frac{\text{peso da desova (g)}}{\text{peso da fêmea (g)}} \times 100$
- $\text{Fecundidade relativa (ml.g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{volume da desova (ml)}}{\text{peso da fêmea (g)}}$
- $\text{Fecundidade total} = \text{n}^\circ \text{ total de ovos da desova}$
- $\text{Frequência reprodutiva (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de desovas da fêmea}}{\text{n}^\circ \text{ total de desovas no lote}} \times 100$
- $\text{Produção média de ovos por fêmea} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de ovos produzidos pela fêmea}}{\text{n}^\circ \text{ de desovas da fêmea}}$
- $\text{Número de larvas por fêmea} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de larvas produzidas pela fêmea}}{\text{n}^\circ \text{ total de desovas da fêmea}}$
- $\text{Sobrevivência larval (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de larvas após absorção do saco vitelínico}}{\text{n}^\circ \text{ de larvas após eclosão}} \times 100$

Cada desova obtida foi acondicionada individualmente em incubadora ligada a um sistema de recirculação de água, dotada por filtro mecânico e temperatura controlada (26 – 28 °C). Os ovos inviáveis foram contados e removidos da incubadora. Completada a absorção do saco vitelínico, determinou-se a sobrevivência, peso e comprimento larval.

Terminado o período experimental, realizou-se biometria de todos os reprodutores. Em seguida, três fêmeas de cada tratamento foram identificadas e anestesiadas. Após completa dessensibilização os animais passaram por processo de eutanásia para a retirada das gônadas, as quais foram pesadas e medidas para o cálculo do Índice Gonadossomático pela fórmula:

- Índice gonadossomático (%) = $\frac{\text{peso da gônada (g)}}{\text{peso da fêmea (g)}} \times 100$

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e 19 repetições (correspondente ao número de fêmeas marcadas com microchip em cada tratamento). As pressuposições das análises de variância foram testadas e, em caso de efeito significativo para os tratamentos, desdobraram-se os graus de liberdade da fonte de variação pela regressão polinomial em efeito linear, quadrático e cúbico no programa computacional SAS 9.1 (*Statistical Analysis Software*, 2004).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Parâmetros produtivos

O desempenho produtivo das fêmeas alimentadas com diferentes níveis de vitamina E está apresentado na Tabela 2. Os resultados de ganho de peso e eficiência alimentar dos peixes alimentados com dietas contendo 400 mg kg⁻¹ foram significativamente menores (P<0,05). Isso provavelmente se deve ao fato de que parte da energia consumida foi direcionada para a reprodução e não para o crescimento. Os menores valores desses parâmetros foram observados nos peixes que receberam rações com suplementação entre 300 e 500 mg kg⁻¹ de vitamina E, os quais apresentaram os melhores índices reprodutivos. As taxa de crescimento específico e absoluto seguiram uma tendência similar ao ganho de peso e taxa

de eficiência alimentar. A sobrevivência foi de 100% em todos os grupos testados não havendo diferença significativa entre eles.

Tabela 2. Médias dos parâmetros produtivos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.

Parâmetros produtivos	Vitamina E (mg kg ⁻¹)				Probabilidade			F	CV
	200	300	400	500	EF. L	EF. Q	EF. C		
Ganho de peso (g)	257	251	153	234	0,18 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,03*	0,03	54,27
Eficiência alimentar	0,27	0,26	0,15	0,23	0,16 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,02*	0,02	54,00
Tx crescimento absoluta (g dia ⁻¹)	2,91	2,86	1,74	2,66	0,18 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,03*	0,03	54,28
Sobrevivência (%)	100	100	100	100	-	-	-		

EF. L: efeito linear; EF. Q: efeito quadrático; EF. C: efeito cúbico; NS: não significativo; *: significativo a 5%.

Assim como os resultados obtidos nesse estudo, muitas pesquisas evidenciam a atuação da vitamina E sobre os parâmetros produtivos de várias espécies de peixes, em diferentes fases. Segundo Baker & Davies (1997) a vitamina E apresentou efeito compensatório no ganho de peso de catfish africano *Clarias garapinus* alimentados com dietas contendo 12% de inclusão de óleo oxidado.

Lee & Dabrowski (2004) mostraram que a vitamina E promoveu um aumento nas taxas de crescimento e sobrevivência durante a fase reprodutiva em perca amarela (*Perca flavescens*). Outro estudo sugeriu que níveis de suplementação de vitamina E acima de 100 mg kg⁻¹ melhoram o ganho de peso e eficiência alimentar de *Epinephelus malabaricus* (Lin & Shiau, 2005). Brown et al. (2005) e Jalali et al. (2008) mostraram a atuação da vitamina E sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas de *Latris lineata* e *Huso huso*, respectivamente.

Por outro lado, algumas pesquisas não observaram efeito significativo da atuação da vitamina E sobre o desempenho produtivo de várias espécies. Gatta et al. (2000) mostraram

que a adição de vitamina E na dieta não afetou o crescimento específico e conversão alimentar de *Dicentrarchus labrax*. Scaife et al. (2000) encontraram resultados similares para salmão do atlântico (*Salmo salar*). Chen et al. (2004) não observaram diferença na performance de “golden shiner” (*Notemigonus crysoleucas*) alimentados com dietas suplementadas com vitamina E após 14 semanas.

Parâmetros Reprodutivos

Volume da desova, número, peso e diâmetro dos ovos

Os dados sobre volume das desovas, número de ovos por fêmea, peso e diâmetro dos ovos estão descritos na Tabela 3. O volume de desova seguiu tendência linear sendo que as fêmeas que receberam a dieta com 500 mg de vitamina E apresentaram aumento de 67% na média em relação a dieta com 200 mg de vitamina E ($P < 0,05$) (Figura 1).

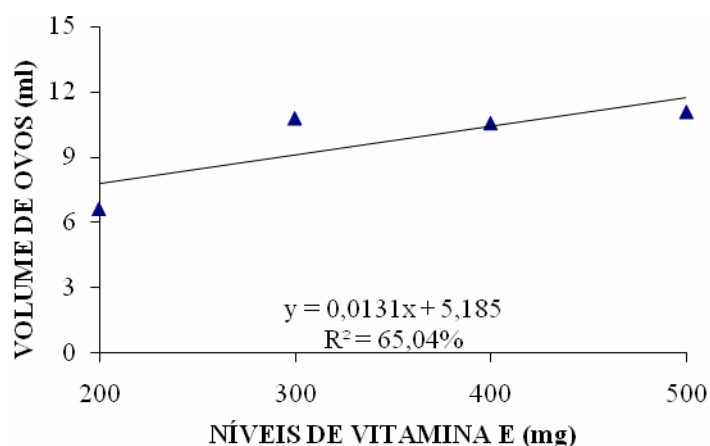


Figura 1. Volume de ovos de de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E.

Tabela 3. Média dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia-do-milo alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.

	¹ Ponto crítico	Vitamina E (mg kg ⁻¹)				F	Probabilidade			CV (%)
		200	300	400	500		² EFL	EFQ	EFC	
Volume de desova (ml)	-	6,64	10,79	10,57	11,08	0,001	0,01*	0,09 ^{NS}	0,27 ^{NS}	20,99
Peso dos ovos (mg)	-	6,7	6,5	6,6	7,1	0,12	0,15 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0,97 ^{NS}	11,15
Diâmetro dos ovos (mm)	-	2,54	2,48	2,52	2,54	0,19	0,70 ^{NS}	0,08 ^{NS}	0,22 ^{NS}	3,49
Número de ovos	-	499	828	877	919	0,01	0,03*	0,29 ^{NS}	0,65 ^{NS}	47,10
Taxa de fertilização (%)	-	99,01	95,01	97,70	96,18	0,17	0,41 ^{NS}	0,42 ^{NS}	0,12 ^{NS}	6,26
Taxa de eclosão (%)	350	45,97	72,83	74,30	40,20	0,002	0,65 ^{NS}	0,002**	0,76 ^{NS}	52,48
Índice de desova (%)	-	0,64	0,90	0,90	1,04	0,01	0,01*	0,51 ^{NS}	0,33 ^{NS}	45,18
Índ. Gonadossmático (%)	-	2,33	1,80	1,73	1,60	0,12	0,86 ^{NS}	0,77 ^{NS}	0,48 ^{NS}	56,31
Fecundidade relativa	-	0,94	1,42	1,35	1,49	0,01	0,02*	0,26 ^{NS}	0,26 ^{NS}	24,03
Fecundidade total	-	621	1069	945	1018	0,005	0,03*	0,08 ^{NS}	0,10 ^{NS}	7,32
Frequência reprodutiva (%)	-	5,3	5,3	5,1	5,2	0,99	0,96 ^{NS}	0,93 ^{NS}	0,91 ^{NS}	78,75
Sobrevivência larval (%)	350	52,5	69,82	89,87	52,51	0,006	0,60 ^{NS}	0,002**	0,11 ^{NS}	50,93
Número de larvas	362	270	549	586	352	0,01	0,41 ^{NS}	0,01*	0,39 ^{NS}	64,73

¹Nível em que a produção atinge seu ponto máximo

²EFL: efeito linear; EF: Q: efeito quadrático; EF: C: efeito cúbico; NS: não significativo; *: significativo a 5%; **: significativo a 1%;

Uma possível explicação para o aumento do volume da desova é a proteção das membranas celulares da peroxidação lipídica, conservando a viabilidade dos oócitos. Estudos mostram que rações com elevados níveis de inclusão de vitamina E e C (899 e 957 mg kg⁻¹, respectivamente) aumentaram o volume e o peso dos ovos de *Macrobrachium rosenbergii* (Cavalli et al., 2003).

Número de ovos produzidos foi significativamente maior nas fêmeas que receberam 500 mg de suplementação de vitamina E na dieta (P<0,05) (Tabela 3; Figura 2). Harlioglu & Barim (2004) observaram que 100 mg.kg⁻¹ de vitamina E na ração aumentou o número de ovos de *Astacus leptodactylus*.

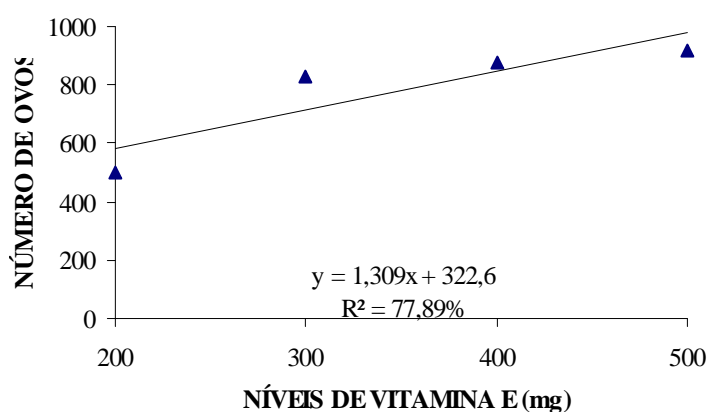


Figura 2. Número de ovos produzidos por de tilápia-do-nylo alimentadas com diferentes níveis de inclusão de vitamina E na ração.

Os diferentes níveis de vitamina E não influenciaram significativamente o peso e o diâmetro dos ovos (P>0,05) (Tabela 3). Infere-se que isto possa ser devido ao fato de que o α -tocoferol transportado pela vitelogenina e acumulado no vitelo pode influenciar a qualidade larval e não o tamanho dos ovos. Emata et al. (2000) constataram que a produção de ovos, o número médio de ovos por desova, o número de desovas e diâmetro médio do ovo não foram afetados pela suplementação dietética de vitamina C

e E em *Chanos chanos*. Já em um estudo com *Cyprinus carpio*, Gupta et al. (1987) observaram que os peixes alimentados com a dieta contendo vitamina E apresentaram desova completa, além de um aumento do tamanho e número dos ovos quando comparados ao controle.

Frequência reprodutiva, taxa de fertilização e eclosão

Não houve diferença significativa na frequência reprodutiva em relação aos diferentes níveis de vitamina E (Tabela 3) ($P > 0,05$). Similarmente a esses resultados, Cavalli et al. (2003) não observaram diferença na frequência reprodutiva de *M. rosenbergii* alimentados com dietas suplementadas com vitamina E e C.

Não se observou diferença estatística significativa em relação à taxa de fertilização dos ovos ($P > 0,05$) (Tabela 3). A vitamina E não afetou a taxa de fertilização dos ovos em galinhas da linhagem Ross (Hossain et al., 1998) e nem a habilidade de fertilização de espermatozoides em truta arco-íris (Canyurt & Akhan, 2008). No entanto, a suplementação melhorou a habilidade de fertilização dos espermatozoides de *Perca flavescens* (Lee & Dabrowski, 2004) e as taxas de fertilização de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) (Biswas et al., 2006).

A eclodibilidade dos ovos é um parâmetro importante na avaliação da qualidade dos ovos. No presente trabalho pôde-se perceber que níveis de inclusão entre 300 e 400 mg.kg^{-1} de vitamina E aumentou as taxas de eclosão dos ovos em torno de 55% ($P < 0,01$) em relação ao menor nível de suplementação (200 mg), evidenciando assim a atuação deste nutriente na dieta dos reprodutores (Tabela 3; Figura 3).

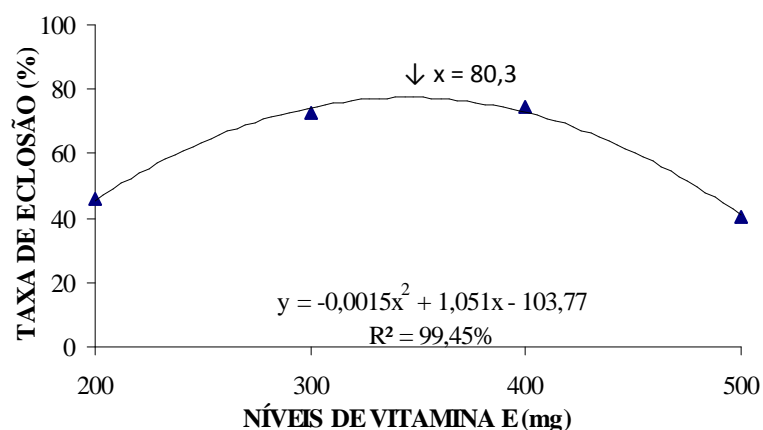


Figura 3. Taxa de eclosão dos ovos de tilápia-do-nilo em relação aos diferentes níveis de inclusão de vitamina E na ração.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram obtidos por outros autores. As taxas de eclosão em ayu (*Plecoglossus altivelis*) foram menores por uma insuficiência de α -tocoferol na dieta (Takeuchi et al., 1981). Cahu et al (1991) encontraram uma correlação linear entre a taxa de eclosão de ovos e a concentração de α -tocoferol na dieta de *Penaeus indicus*.

Índice de desova, índice gonadossomático e fecundidade

Os resultados dos índices de desova, gonadossomático e das fecundidades estão apresentados na Tabela 3. Nota-se que o índice de desova seguiu uma tendência linear, apresentando melhores resultados nos maiores níveis de suplementação ($P < 0,05$) (Figura 3). Já que não se constatou diferença entre os tratamentos para o peso dos ovos, os valores obtidos para o índice de desova neste trabalho estão diretamente relacionados ao peso das fêmeas.

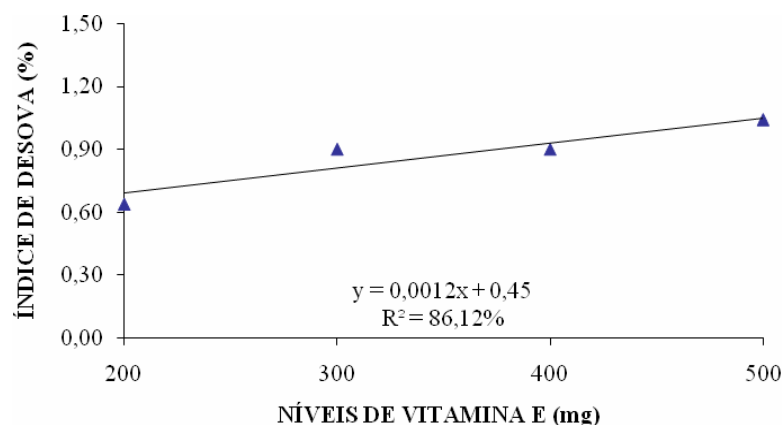


Figura 4. Índice desova de fêmeas de tilápia-do-nilo em relação aos diferentes níveis de inclusão de vitamina E na ração.

A fecundidade relativa e total seguiram tendência similar ao índice de desova apresentando aumento percentual de 50 e 47%, respectivamente, nas fêmeas suplementadas com 500 mg quando comparadas aos do tratamento de 200 mg de vitamina E. A fecundidade em *Sparus aurata* foi maior quando esses recebem dietas suplementadas com vitamina E (Izquierdo et al., 2001). Por outro lado, Cavalli et al. (2003) não constataram diferença na fecundidade de *Macrobrachium rosenbergii* alimentados com dietas suplementadas com vitamina E e C.

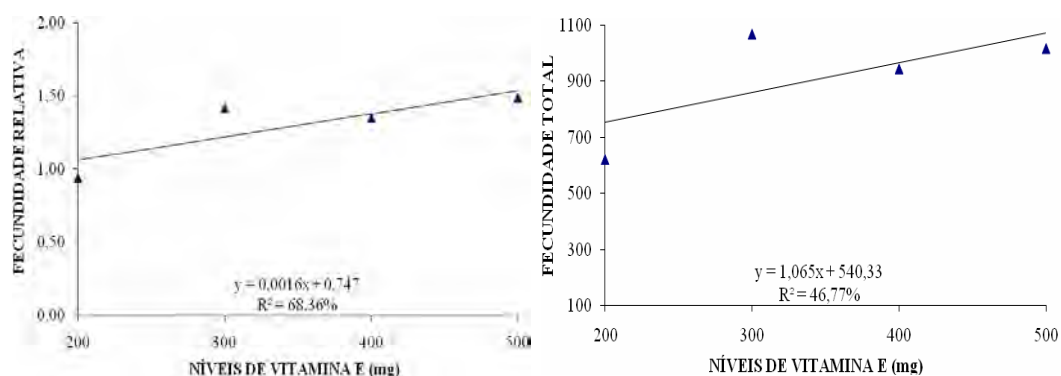


Figura 5. Fecundidade relativa e total de fêmeas reprodutoras de tilápia-do-nilo em relação aos diferentes níveis de inclusão de vitamina E na ração.

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) da vitamina E sobre o índice gonadossomático (Tabela 3). No entanto, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* e *Perca flavescens* apresentaram maiores índices gonadossomático quando alimentados com dietas suplementadas com vitamina E (Gupta et al., 1987; Lee & Dabrowski, 2004).

Sobrevivência e número de larvas

A Tabela 3 mostra os dados de sobrevivência das larvas após a completa absorção do saco vitelínico e o número de larvas produzidas por fêmea. É possível observar que a percentagem de sobrevivência ($P<0,01$) e o número de larvas ($P<0,05$) foi maior no tratamento em que as fêmeas receberam dietas com níveis de suplementação entre 300 e 400 mg de vitamina E (Figura 5 e 6).

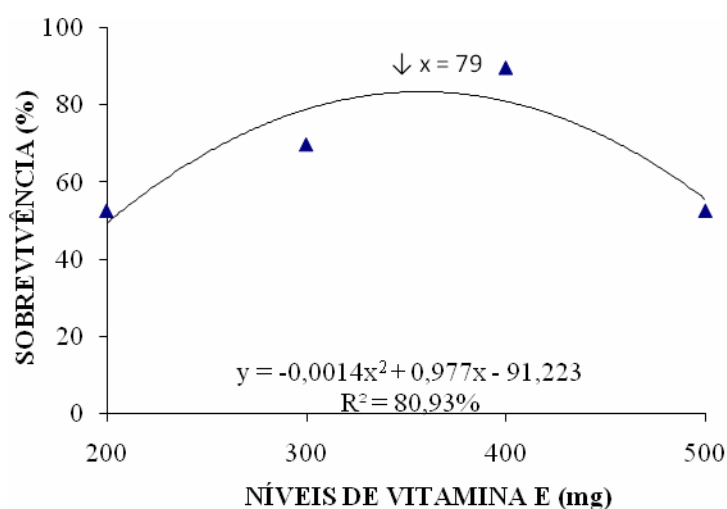


Figura 6. Taxa de sobrevivência das larvas de tilápia-do-nilo após completa absorção do saco vitelínico.

A relação entre a taxa de sobrevivência larval e a inclusão de vitamina E na dieta dos reprodutores tem sido mostrada em alguns trabalhos e pode estar associada à função imunestimulante dessa vitamina. *Penaeus vannamei* apresentaram um aumento na

taxa de sobrevivência de suas larvas quando essas eram alimentadas com artêmia enriquecida em uma mistura de α -tocoferol, palmitato ascorbil e astaxantina (Wuoters et al., 1999). Uma combinação de vitamina C e E aumentou as taxas de sobrevivência de *Chanos chanos* (Emata et al., 2000) e *Perca flavescens* (Lee & Dabrowski, 2004).

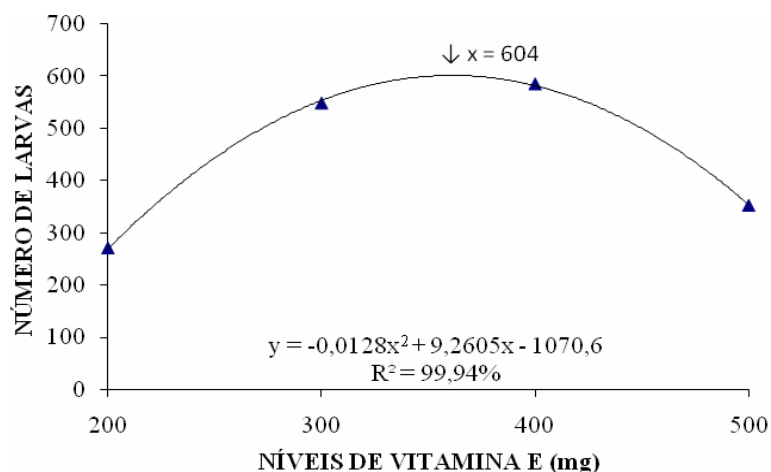


Figura 7. Número de larvas produzidas por fêmeas de tilápia-do-nilo em relação ao nível de suplementação de vitamina E na ração.

Alguns estudos têm mostrado a influência da vitamina E sobre a produção de larvas. Watanabe et al. (1985) e Harlioglu et al. (2002) recomendam 100 mg.kg^{-1} de α -tocoferol para aumentar o número de larvas produzidas por *Pagrus major* e *Astacus leptodactylus*, respectivamente.

A partir dos resultados do presente estudo, concluímos que dietas contendo entre 300 e 500 mg kg^{-1} de vitamina E foram suficientes para garantir a reprodução adequada de fêmeas de tilápia-do-nilo. No entanto, a inclusão de 362 mg.kg^{-1} de vitamina E na ração é suficiente para promover a produção de um maior número de larvas de tilápia-do-nilo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andriguetto, J.M., Perly, L., Minardi, I. & Gemael, A. (1988) Vitaminas. In: *Nutrição anima*, 4 ed, pp. 143-246. Nobel, São Paulo, BR.
- Baker, R. T. M. & Davies, S. J. (1997) Modulation of tissue a-tocopherol in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), fed oxidized oils, and the compensatory effect of supplemental dietary vitamin E. *Aquaculture Nutrition* **3**, 91–97.
- Barros, M.M., Pezzato, L.E., Kleemann, G.K., Hisano, H. & Rosa, G.J.M. (2002) Níveis de Vitamina C e Ferro para Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* **31** (6), 2149-2156.
- Biswas A., Mohan J., Sastry K.V.H. & Tyagi J.S. (2006) Effect of dietary vitamin E on the cloacal gland, foam and semen characteristics of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Theriogenology* **67**, 259-263.
- Bobbio, F. O. & Bobbio, P. (1995) *Introdução à química de alimentos*, 2 ed., pp. 169-171. Varela, São Paulo, BR.
- Brown, M.R., Dunstan, G.A. & Nichols, P.D. (2005) Effects of a-tocopherol supplementation of rotifers on the growth of striped trumpeter *Latris lineata* larvae. *Aquaculture* **246**, 367-378.

- Cahu, C., Fakhfakh, M., Quazuguel, P. (1991) Effect of dietary a-tocopherol level on reproduction of *Penaeus indicus*. Páginas 242–244 em *Larvi '91 - Fish & Crustacean Larviculture Symposium* (Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. eds.). 15 ed. European Aquaculture Society, Ghent, Bélgica.
- Canyurt, M.A. & Akhan, S. (2008) Effect of dietary vitamin E on the sperm quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Aquaculture Research* **39**, 1014-1018.
- Cavalli, R. O., Batista, F. M. M., Lavens, P., Sorgeloos, P., Nelis, H. j. & De Leenheer, A. P. (2003) Effect of dietary supplementation of vitamins C and E on maternal performance and larval quality of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* **227**, 131-146.
- Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K. & Lee, K. (2004) Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture* **242**, 553–569.
- Conklin, D.E. Diet. (2000) *Housing, Maintenance and Breeding*, pp. 65–77. Academic Press, Washington, USA.

- Coward, K. & Bromage, N.R. (1999a) Spawning periodicity, fecundity and egg size in laboratory-held stocks of a substrate-spawning tilapiine, *Tilapia zillii* (Gervais). *Aquaculture* **171**, 251–267.
- Coward, K. & Bromage, N.R. (1999b) Spawning frequency, fecundity, eggs 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.
- Emata, A.C., Borlongan, I.G., Damaso, J.P. (2000) Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. *Aquaculture Research* **31**, 557–564.
- Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Gonzalez, M., Robaina, L. & Valencia, A. (1998) Combined effect of dietary α -tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. *Aquaculture* **161**, 475–476.
- Gatta, P.P., Pirini, M., Testi, S., Vignola, G. & Monetti, P.G. (2000) The influence of different levels of dietary vitamin E on sea bass, *Dicentrarchus labrax* flesh quality. *Aquaculture Nutrition* **6**, 47–52.

- Godinho, H.P. (2007) Reproductive strategies of fishes applied to aquaculture: bases for development of production technologies. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **31** (3), 351-360.
- Gupta, S.D., Khan, H.A., Bhowmick, R.M. (1987) Observations on the effect of vitamin E and growth hormone on the gonadal maturity of carps (*Cyprinus carpio*). *Journal of the Inland Fisheries Society of India* **19** (2), 26– 31.
- Harlioglu, M.M., Koprucu, K. & Ozdemir, Y. (2002) The effect of dietary vitamin E on the pleopodal egg number of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Aquaculture International* **10**, 391-397.
- Huang, C. H. & Huang, S. L. (2004) Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *O. niloticus* X *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture* **237**, 381-389.
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios H. & Tacon A.G.J. (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* **197**, 25-42.
- Jalali, M.A., Hosseini, S.A. & Imanpour, M.R. (2008) Effect of vitamin E and highly unsaturated fatty acid-enriched *Artemia urmiana* on growth performance, survival and stress resistance of Beluga (*Huso huso*) larvae. *Aquaculture Research* **39**, 1286-1291.

Lee, K.J. & Dabrowski, K. (2004) Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture* **230**, 377-389.

NRC. 1993. *Nutrient requirements of fish*, pp. 56. Academic Press, Washington, USA.

Pavlidis, M., Greenwood, L. & Scott, A.P. (2004) The role of sex ratio on spawning performance and on the free and conjugated sex steroids released into the water by common dentex (*Dentex dentex*) broodstock. *General and Comparative Endocrinology* **138**, 255-262.

Pereira, T. S.; Fabregat, T. E. P.; Fernandes, J. B. K.; Boscolo, C. N.; Castillo, J. D. A. & Dias-Koberstein, T. C. R. (2009) Selênio na alimentação de matrizes de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, **31**(4), 1-5.

Pezzato, L. E., Barros, M. M., Fracalossi, D. M. & Cyrino, J. E. P. (2004) Nutrição de peixes. In: *Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva* (Cyrino, J. E. P., Urbinati, E. C., Fracalossi, D. M. & Castagnolli, N., eds.), pp. 75-171. TecArt, São Paulo, BR.

Scaife, J.R., Onibi, G.E., Murray, I., Fletcher, T.C. & Houlihan, D.F. (2000) Influence of α -tocopherol acetate on the short- and longterm storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. *Aquaculture Nutrition* **6**, 65–71.

- Shiau, S.Y. & Shiau, L.F. (2001) Reevaluation of the vitamin E requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Animal Science* **72**, 529–534.
- Takeuchi, M., Ishii, S. & Ogiso T. (1981) Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution, and mortalities of the fertilized eggs and fry in Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* **104**, 111–112.
- Tokuda, M., Yamaguchi, T., Wakui, K., Sato, T., Ito, M. & Takeuchi, M. (2000) Tocopherol affinity for serum lipoproteins of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* during the reproduction period. *Fisheries Science* **66**, 619-624.
- Watanabe, T., Koizumi, T., Suzuki, H., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T. & Tsukashima, Y. (1985) Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Bulletin of the Japan Society of Scientific Fisheries* **51**, 1511–1521.
- Wouters, R., Gomez, L., Lavens, P. & Calderon, J. (1999) Feeding enriched artêmia biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: its effects on reproductive performance and larval quality. *Journal of Shellfish Research* **18** (2), 651-656.
- Vazzoler, A. E. A. M. (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e Prática*. Nupélia, Maringá, PR, BR.