

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO EM DIETAS DE
REPRODUTORES DE TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*).**

Thiago Scremin Pereira

Orientador: Dr. João Batista Kochenborger Fernandes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Unesp, Campus de Jaboticabal como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

**JABOTICABAL – SP
AGOSTO – 2009**

Pereira, Thiago Scremin

P436s Suplementação de selênio orgânico em dietas de reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). / Thiago Scremin Pereira. – Jaboticabal, 2009
v, 59 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, 2009

Orientador: João Batista Kochenborger Fernandes

Banca examinadora: Sérgio Fonseca Zaiden, Giovani Sampaio Gonçalves.

Bibliografia

1. peixes. 2. minerais. 3. reprodução I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.03

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

Dedico este trabalho a minha família (Pai Valdemar, Mãe Odete e Irmã Luciana) e a minha companheira Camila, que são exemplos de apoio, dedicação, perseverança, coragem e amor... Pessoas maravilhosas que sempre acreditaram no meu sonho e nos meus ideais, e o mais importante, sempre estiveram do meu lado me incentivando a conquistá-los.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, pela orientação, dedicação, confiança e ensinamentos que possibilitaram meu crescimento profissional e intelectual;

Aos amigos Julian David Alvarado Castillo, Frederico Gradela, Cláudio Sakamoto, Rafael Paranhos Sadã, Luis Fernando Minero e Márcio Menudo pela grande amizade e companheirismo;

Ao grande amigo e irmão Hiago Henrique Moura pela amizade e companheirismo;

A todos os meus familiares em especial aos meus tios Paulo, Edevar, Cleide e Lurdes pela força e apoio;

Aos meus primos Alexandre, Mirele e João Victor;

À minha avó Alzira que sempre me ensinou a ser humilde e batalhador;

À Fiona que sempre me alegrou e mostrou que não precisa de muitas coisas para ser feliz;

Aos professores membros das bancas de qualificação e defesa pelas valiosas sugestões e colaborações;

Aos colegas, funcionários e professores do Caunesp, pela boa convivência e pelos ensinamentos transmitidos durante estes anos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro;

A todos aqueles que ajudaram na condução deste trabalho.

Um muito obrigado, com eterna gratidão!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1.1 Aquicultura.....	1
1.2 Tilápia.....	1
1.3 Selênio.....	2
1.4 Objetivos Gerais.....	10
1.5 Objetivos Específicos.....	11
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
 CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO REPRODUTIVO DE TILÁPIA-DO-NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>) SUBMETIDAS A DIETAS SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE SELÊNIO ORGÂNICO.	
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.1 Local.....	22
2.2 Animais e Instalações.....	22
2.3 Delineamento Experimental.....	22
2.4 Variáveis Físico-Químicas da água.....	22
2.5 Dietas Experimentais.....	23
2.6 Desempenho Reprodutivo.....	24
2.7 Coleta dos Ovos.....	24
2.8 Avaliação Espermática.....	25
2.9 Análises Estatísticas.....	26
3. RESULTADOS.....	27
3.1 Variáveis Físico-Químicas da água.....	27
3.2 Desempenho Reprodutivo.....	27
3.3 Diâmetro do Ovo.....	27
3.4 Avaliação Espermática.....	28
4. DISCUSSÃO.....	29
4.1 Parâmetros Físico-Químicos da água.....	29
4.2 Desempenho Reprodutivo.....	29
4.3 Diâmetro do Ovo.....	31
4.4 Avaliação Espermática.....	32
5. CONCLUSÕES.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
 CAPÍTULO 3 – SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO EM RAÇÕES PARA REPRODUTORES DE TILÁPIA-DO-NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>): DESENVOLVIMENTO INICIAL E DESEMPENHO PRODUTIVO DA PROGENIE.	
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	43
1. INTRODUÇÃO.....	44
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
2.1 Local.....	46

2.2 Animais e Instalações.....	46
2.3 Delineamento Experimental.....	46
2.4 Variáveis Físico-Químicas da água.....	46
2.5 Dietas Experimentais.....	47
2.6 Desenvolvimento Inicial da Progenie.....	47
2.7 Desempenho produtivo da Progenie.....	48
2.8 Análises Estatísticas.....	48
3. RESULTADOS.....	49
3.1 Variáveis Físico-Químicas da água.....	49
3.2 Desenvolvimento Inicial da Progenie.....	49
3.3 Desempenho da Progenie.....	50
4. DISCUSSÃO.....	51
4.1 Variáveis Físico-Químicas da água.....	51
4.2 Desenvolvimento Inicial da Progenie.....	51
4.3 Desempenho da Progenie.....	52
5. CONCLUSÕES.....	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.

SUMÁRIO DE FIGURAS

Capítulo 2:

Figura 1: Ovo de tilápia-do-nilo com setas mostrando como foram feitas as medidas de diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (dm) em mm.....24

Capítulo 3:

Figura 1: Larva de tilápia-do-nilo com medidas utilizadas na biometria.....47

SUMÁRIO DE TABELAS

Capítulo 2:

Tabela1: Ingredientes e composição das dietas experimentais.....	23
Tabela 2: Parâmetros reprodutivos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico.....	27
Tabela 3: Diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (dm) dos ovos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico.....	27
Tabela 4: Parâmetros espermáticos de reprodutores de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico.....	28

Capítulo 3:

Tabela 1: Parâmetros do desenvolvimento inicial pós-eclosão da progênie de matrizes de tilápia-do-nilo.....	49
Tabela 2: Desempenho de progênies de tilápia-do-nilo, após período de reversão sexual, cujo os pais receberam suplementação de selênio orgânico na dieta.....	50

CAPÍTULO 1

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1. AQUICULTURA

Segundo o departamento de pesca da FAO, a produção aquícola mundial no ano de 2006 foi de 66,7 milhões de toneladas, devendo alcançar 120 milhões de toneladas em 2010. Em 2006, no Brasil a produção aquícola foi de 271 mil toneladas (FAO, 2006). O Brasil se insere no contexto internacional como um dos países com grande potencial para a piscicultura, por possuir um vasto território e ótimas condições climáticas.

A aquicultura brasileira pode ser considerada como uma atividade econômica importante que gera ganhos significativos para a economia regional e nacional sendo dependente dos ecossistemas onde está inserida, os quais devem permanecer em equilíbrio para possibilitar a manutenção desta atividade (Valenti *et al.*, 2000).

Dentro da aquicultura, a piscicultura vem se tornando cada vez mais importante como fonte de proteínas para o consumo humano. Tanto na piscicultura extensiva quanto na intensiva, verificam-se modificações no ecossistema, que são de pouca expressão, no primeiro caso, e extremamente pronunciadas no segundo. A piscicultura intensiva implica em densidades populacionais muito elevadas e em grande aumento de produtividade quando comparadas com as populações naturais, sendo empregada basicamente alimentação artificial (Pavanelli *et al.*, 2002).

1.2. TILÁPIA

Tilápia é o nome comum atualmente aplicado para três gêneros de peixes da família Cichlidae: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia*. Têm se tornado a segunda fonte alimentar em peixe de água doce do mundo. No gênero *Oreochromis* estão os

mais importantes peixes comercialmente produzidos na aquicultura mundial, com mais de 75 países produtores (Morrison *et al.*, 2001).

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) é procedente da Costa do Marfim e foi introduzida no Brasil pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) em Pentecostes (CE), em 1971. É a espécie de tilápia mais cultivada no mundo. Em 2002 sua produção representou aproximadamente 81% do total de produção de tilápia do mundo (FAO, 2005).

A tilápia é uma espécie versátil para a piscicultura, pois, adapta-se tanto ao cultivo extensivo, sem qualquer tecnologia empregada, quanto ao sistema de criação de tanques-rede, com rações completas e alta tecnologia de produção. Este último sistema vem crescendo consideravelmente no Brasil e em diversos países onde existem grandes reservatórios de água. A tilápia ainda destaca-se como uma das mais importantes espécies, devido à sua alta taxa de crescimento, adaptabilidade em diversas condições de criação e boa aceitação pelo consumidor. Além disso, é apreciada em “pesque-pagues” e pela indústria de filetagem, graças às qualidades organolépticas e à inexistência de espinhos em “Y” no seu filé (Kubitza, 2000).

1.3. SELÊNIO

Os minerais são nutrientes essenciais para o processo normal da vida, e todos os animais, incluindo os peixes, necessitam destes em sua dieta. São substâncias responsáveis pela formação do esqueleto, manutenção do sistema coloidal, regulação do equilíbrio ácido-base e componentes na formação de hormônios e enzimas (Watanabe *et al.*, 1997).

Os microminerais são elementos importantes no metabolismo em todas as fases do desenvolvimento dos animais. Principalmente nos processos reprodutivos, onde se destacam ainda mais. Entre os minerais importantes na dieta estão o cromo, cobalto,

manganês, selênio, zinco, iodo, arsênio e níquel. Dentre estes alguns são considerados essenciais para todos os animais, como o selênio (Kim *et al.*, 2003).

O selênio foi descoberto pelo químico sueco J. J. Berzelius, em 1817. É um elemento calcogênio do grupo 16 da tabela periódica, podendo apresentar-se sob quatro diferentes estados de oxidação: selenato (Se^{+6}), selenito (Se^{+4}), selênio elementar (Se^0) e seleneto (Se^{-2}) (Eisler, 1985).

O selênio é um elemento traço essencial para os animais, importante para muitos processos celulares. Na primeira metade do século XX, descobriu-se que o selênio apresentava toxicidade, e por isso foi considerado um elemento indesejável para os organismos. Já na segunda metade do século XX, Schwarz & Foltz (1957) demonstraram que o selênio, em baixas concentrações na dieta, era um nutriente essencial.

O selênio está presente em vários ingredientes e diversos compostos são considerados fontes de suplementação. As farinhas de peixes e os produtos marinhos utilizados como ingredientes de rações para peixes são fontes de selênio, mas somente as dietas contendo acima de 15% de farinha de peixe apresentam concentrações adequadas deste mineral, não necessitando de suplementação. No entanto rações formuladas predominantemente com produtos de origem vegetal necessitam de suplementação com selênio, uma vez que a concentração é variada, estando diretamente ligada à presença desse mineral no solo (Wang & Lovell, 1997).

As fontes de selênio orgânico e inorgânico são de grande importância dentro da função fisiológica animal. A forma orgânica como a selenometionina e a selenocisteína é proveniente de alimentos vegetais e animais, enquanto as principais fontes de selênio inorgânico são o selenato de sódio e o selenito de sódio. A maioria das plantas e animais que alimentam e servem de alimento são fontes naturais de selênio orgânico, outras

fontes têm sido encontradas, como as leveduras cultivadas em meios ricos em selênio, que produzem em abundância selenometionina ou um coquetel destes selenocomponentes (Bird *et al.*, 1997).

Os peixes podem absorver o selênio da água através das brânquias, do trato digestório e do tegumento (Evans, 1993; Hamilton, 2004). Entretanto, a dieta é a via de captação de selênio dominante, uma vez que os peixes e outros animais ocupam níveis tróficos mais elevados na cadeia alimentar (Dallinger *et al.*, 1987).

O selênio é um mineral que atua nos processos fisiológicos como no metabolismo dos hormônios da tireóide. A tireóide é uma importante glândula do organismo que produz os hormônios tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), os quais regulam várias funções fisiológicas. Alguns efeitos dos hormônios tireoideanos incluem o aumento do metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas, pela modulação da ação de hormônios, como insulina, glucagon, glicorticóides e catecolaminas (Rang *et al.*, 2001).

A tiroxina (T4) pode ser considerada um pró-hormônio que, ao penetrar nas células, será convertido, a partir de uma deiodinação, no hormônio metabolicamente ativo triiodotironina (T3). O selênio tem um papel importante na regulação dos hormônios tireoideanos, pois faz parte das selenoenzimas iodotironina deiodinases (I, II e III) que convertem o T4 em T3. Essa conversão ocorre, em sua maior parte, em tecidos periféricos, incluindo o fígado e os rins (Barry & Larsen, 1992; Foster *et al.*, 2000).

A conversão do hormônio T4 em T3 é benéfico para o organismo, pois o hormônio T3 atua sobre o crescimento do animal através do aumento no volume protéico. A deficiência de selênio poderia afetar este volume protéico e, conseqüentemente, o crescimento animal, pela redução da síntese de T3 (Hayashi, 1993).

Sinais de deficiência de selênio também incluem alterações vasculares, catarata, degeneração pancreática e falha reprodutiva (Foster & Sumar, 1995). Segundo Reilly (1998), a deficiência de selênio é um fator importante de predisposição ao desenvolvimento de tumores em humanos. Estudos epidemiológicos mostraram uma relação inversa entre os níveis de selênio no plasma e a incidência de câncer (Fiala *et al.*, 1998).

O selênio, além de proteger as células contra o processo oxidativo e prevenir a ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas, possui importante papel nas selenoenzimas como a glutathiona peroxidase. A glutathiona peroxidase (GPx) é uma enzima antioxidante que contém selênio em sua composição e remove radicais peroxil de vários peróxidos. A principal função desta enzima é o combate ao estresse oxidativo. Esta ação oxidante ocorre quando a glutathiona peroxidase atua sobre os hidroperóxidos e lipoperóxidos, impedindo que estes compostos tóxicos causem danos as células. Devido a sua função antioxidante a glutathiona peroxidase apresenta funções já conhecidas no núcleo espermático, na motilidade espermática, assim como na formação de microtúbulos. De fato, sabe-se que o selênio tem papel importante na estrutura dos espermatozóides por estar associado à glutathiona peroxidase (Griveau & Le Lannou, 1994). No entanto, pouco se sabe a respeito do efeito do selênio no sêmen de peixes, na qualidade do ovo e na viabilidade das larvas produzidas.

Segundo Watanabe *et al.*, (1997), este micromineral é essencial durante o desenvolvimento embrionário, porque combate os radicais livres que deterioram a membrana do ovo além de participar do desenvolvimento e maturação dos espermatozóides.

Sabe-se que entre os fatores que afetam a qualidade do ovo, está a fecundidade, o sistema endócrino da fêmea durante o crescimento do ovócito no ovário, a dieta, o

complemento de nutrientes depositados dentro do ovócito, e condições limnológicas da água nos quais os ovos são incubados (Brooks *et al.*, 1997). Já o desempenho das progênes, a dieta dos reprodutores parece ser um dos fatores mais importantes no bom desenvolvimento dos animais (El Sayed *et al.*, 2003).

No entanto, não existem trabalhos que relacionam a dieta de reprodutores de peixes com selênio no tamanho dos ovos e principalmente no desempenho das larvas. A maioria dos estudos encontrados na literatura evidencia o efeito tóxico do selênio na má formação de ovos e larvas (Lemly, 2002; Hamilton, 2004).

Segundo Eisler (1985), a deficiência de selênio não é tão bem documentada quanto sua toxicidade, mas, é igualmente significativa. Este autor ainda relata que uma ingestão suficiente de selênio é necessária para promover o crescimento e a prevenção de doenças em animais e no homem.

Além disso, o mineral compõe o sistema de proteção contra a toxicidade de metais pesados como cádmio e mercúrio e, atuando em conjunto com vitamina E, provoca um efeito aditivo na prevenção da peroxidação dos lipídeos das membranas tornando-se essencial para evitar a distrofia muscular (Watanabe *et al.*, 1997).

O selênio possui três níveis de atividade biológica: 1) concentrações-traço são requeridas para o crescimento e desenvolvimento; 2) concentrações moderadas que podem ser estocadas para manutenção das funções homeostáticas; e 3) concentrações elevadas que podem resultar em efeitos tóxicos (Hamilton, 2004). Assim, o selênio pode ser tanto um elemento essencial quanto tóxico, dependendo da concentração (Monteiro *et al.*, 2007).

A utilização de selênio em combinação com a vitamina E na dieta de salmão do atlântico (*Salmo salar*) preveniu a distrofia muscular (Poston *et al.*, 1976) e em truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) a diátese exsudativa (Bell *et al.*, 1985), que é caracterizada

por grave edema devido ao aumento da permeabilidade de capilares em combinação com níveis reduzidos de proteínas séricas (Kristiansen, 1973).

Segundo Watanabe *et al.*, (1997), a deficiência de selênio em peixes geralmente resulta em depressão do crescimento. Em alevinos de salmão do atlântico, alimentados com dieta deficiente em selênio, ocorreu mortalidade que poderia ser prevenida pela administração de uma dieta contendo 0,1 mg Se/kg e 500 UI de vitamina E/kg (Poston *et al.*, 1976). Na mesma espécie (*S. salar*) alimentada com uma dieta deficiente em selênio por 26 semanas, os sinais da deficiência foram letargia, perda do apetite, redução do tônus muscular e mortalidade, sendo que o melhor crescimento foi com um nível de Se de 0,15 mg/kg (Poston & Combs, 1979).

Em truta arco-íris a deficiência de selênio causou natação anormal (Bell *et al.*, 1986), degeneração hepática e muscular (Hilton *et al.*, 1980) e nefrocalcinose, degeneração e inflamação dos túbulos renais (Hicks *et al.*, 1984). A exigência de selênio na dieta foi estabelecida para a truta arco-íris em 0,38 mg de selenito de sódio/kg (Hilton *et al.*, 1980); para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) em 0,25 mg de selenito de sódio/kg (Gatlin & Wilson, 1984); para salmão do atlântico (*Salmo salar*) em 0,15 mg de selenito de sódio/kg (Poston & Combs, 1979) e para juvenis de garoupa (*Epinephelus malabaricus*) em 0,8 mg de selenometionina/kg (Lin & Shiau, 2005). Em *Pogonichthys macrolepidotus* o ganho de peso foi maior com dietas contendo 26,0 e 57,6 µg Se/kg e menor com 0,4 e 12,6 µg Se/kg (Deng *et al.*, 2007).

O selênio orgânico (selenometionina) tem sido estudado por ter maior bioviabilidade do que o selênio inorgânico (selenito de sódio). Isto foi observado para o salmão do atlântico por Lorentzen *et al.*, (1994) e para o bagre do canal por Wang & Lovell, (1997). A fonte de selênio inorgânica mais utilizada para suplementação da dieta é o selenito de sódio que pode promover a produção de radicais peróxidos e causar

estresse oxidativo através da reação de redução com glutatona reduzida (Surai, 2002a; 2002b).

El-Gamal *et al.*, (2007) testando o efeito conjunto de selênio e vitamina C e E em reprodutores de tilápia-do-nilo obtiveram resultados satisfatórios para índice gonadossomático, número e tamanho de ovos, taxa de eclosão e sobrevivência de progênies. A combinação entre selênio e vitamina C e E, já havia sido relatada por aumentar a reprodução e o desempenho de *Cyprinus carpio* (Watanabe & Takashima, 1977), sobrevivência e eclosão em *Plecoglossus altivelis* (Takeuchi *et al.*, 1981) e maior porcentagem de ovos viáveis e fecundidade em *Sparus aurata* (Izquierdo *et al.*, 2001).

Em outros animais, como nos bovinos, o selênio é extremamente importante na prevenção de alterações na reprodução, fundamentalmente na época do parto. Este mineral compõe um importante sistema antioxidante no organismo animal, pois combate os radicais livres que são produzidos durante o metabolismo e que podem causar danos contra o organismo prevenindo, desta forma, a incidência de doenças e melhorando a reprodução dos animais. No entanto, os mecanismos patológicos e reprodutivos envolvidos ainda são desconhecidos. Vacas suplementadas com selênio e vitamina E aumentaram a taxa de fertilização. O selênio demonstrou ser, entre todos os minerais indicados como essenciais um dos elementos mais importantes quando se trata de reprodução (Alonso *et al.*, 1997).

Em touros o selênio se concentra nos testículos e epidídimo e neles exerce importantes funções metabólicas, como um antioxidante, na formação dos espermatozoides (nos testículos) e na maturação espermática (nos epidídimos). Em fêmeas de bovinos, o selênio se concentra nos ovários e exerce importante função metabólica. Apresenta função antioxidante, na formação dos ovócitos e na maturação

dos folículos que promoveram a ovulação, pela ação da enzima glutathione peroxidase (Barbosa & Souza, 2006).

Em caprinos foi observado aumento no percentual de motilidade espermática após adicionar 5µM de glutathione ao sêmen (Sinhá *et al.*, 1996). Em aves a inclusão de selênio na dieta aumentou a atividade da glutathione peroxidase no fígado, espermatozóides e plasma seminal desses animais (Surai *et al.*, 1998).

Em seres humanos o selênio é um elemento importante para a regulação e desenvolvimento do feto e do recém-nascido (Ewan, 1976), sendo que a deficiência desse elemento pode ocasionar abortos (Al-Kunani *et al.*, 2001) e nascimentos prematuros (Dabrzynski *et al.*, 1998).

Por outro lado, dados na literatura demonstram que o selênio, em altas doses, pode apresentar efeitos tóxicos para o desenvolvimento intra-uterino em mamíferos. A exposição a formas inorgânicas de selênio causa o aparecimento de malformações embrionárias em patos (Hoffman & Heinz, 1988) e galinhas (Palmer *et al.*, 1973).

A toxicidade do selênio ocorre quando em excesso, pela substituição errônea do enxofre, resultando na formação de compostos que impedem ligações químicas importantes, provocando a formação de enzimas e moléculas protéicas distorcidas e disfuncionais. Desta forma ocorre alteração da estrutura tridimensional, prejudicando as funções enzimáticas e os processos bioquímicos normais da célula (Alaimo *et al.*, 1994; Spallholz *et al.*, 2004). Assim, o selênio pode tanto causar estresse oxidativo quanto defender o organismo deste estresse, dependendo da concentração (Miller *et al.*, 2007).

A dieta é uma das rotas de exposição ao selênio, causando toxicidade em vertebrados aquáticos quando ingeridos em altas doses. Em fêmeas de *Xyrauchen texanus* a exposição crônica ao selênio causou transferência maternal para ovos e embriões, levando ao aumento da lamela branquial, catarata córnea, exoftalmia,

alterações patológicas do fígado, rim, coração e ovários e deformidades teratogênicas na coluna, cabeça, boca e nadadeiras (Lemly, 2002; Hamilton, 2004). Tashjian *et al.* (2006), observaram menor atividade natatória e retenção de lipídeos em jovens de esturjão branco (*Acipenser transmontanus*) expostos a níveis tóxicos de selênio na dieta (20,5 e 41,7 µg Se/g). Isto ocorre por que o alto acúmulo de selênio em peixes causa estresse e prejudica a retenção de energia.

A depuração é outro aspecto que deve ser levado em conta quanto à toxicidade do selênio. A meia-vida de depuração do selênio em peixes jovens varia de 19 a 30 dias (Hilton *et al.*, 1980; Besser Besse *et al.*, 1993) e de 30 a 60 dias ou mais para outras espécies adultas de peixe (Hamilton *et al.*, 2005).

Peixes que têm alto acúmulo de selênio nos tecidos também apresentam alto índice hepatossomático (Pyle *et al.*, 2005). Quando em concentração muito elevada, este mineral, torna-se muito tóxico, proporcionando efeitos carcinogênicos e teratogênicos (Hamilton, 2004). A diferença entre a exigência nutricional e os níveis tóxicos é muito pequena para o selênio. Para a maioria dos peixes a exigência está entre 0,25 a 0,80 mg Se/kg da dieta (Lin & Shiau, 2005).

As exigências minerais das diferentes espécies de peixes ainda são pouco estudadas. As recomendações adotadas para a formulação de rações para espécies tropicais se baseiam em valores médios disponíveis na literatura como o NRC (1993) que, em sua maioria, se referem aos estudos realizados com peixes de clima temperado. Assim, torna-se de extrema importância conhecer a concentração necessária de minerais como o selênio em dietas para reprodutores de tilápia-do-nilo.

1.4 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de selênio orgânico na dieta de reprodutores de tilápia-do-nilo sobre o desempenho reprodutivo,

qualidade do sêmen, diâmetro dos ovos, desenvolvimento inicial das progênes e o desempenho das progênes durante o período da reversão sexual.

1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos do selênio orgânico em reprodutores de tilápia-do-nilo através dos seguintes parâmetros:

Desempenho reprodutivo: Quantidade de desovas por fêmea, número de ovos por grama de fêmea e a relação entre o total de larvas e o total de ovos viáveis produzidos.

Qualidade do sêmen: Porcentagem de motilidade, tempo de motilidade e a viabilidade espermática.

Diâmetro dos ovos: Diâmetro maior e diâmetro menor.

Desenvolvimento inicial das progênes: Comprimento total, comprimento padrão, comprimento da cabeça, comprimento do tronco e o peso das progênes recém-eclodidas.

Desempenho das progênes: Sobrevivência, ganho de peso e a conversão alimentar aparente das progênes.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAIMO, J.; OGLE, R. S.; KNIGHT, A. W. Selenium uptake by larval *Chironomus decorus* from a *Ruppia maritima* – based benthic detrital substrate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.27, p.441-448, 1994.

ALONSO, M. L.; MIRANDA, M.; HERNANDEZ, J.; CASTILLO, C.; BENEDITO, J. L. Glutathione peroxidase (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de Selenio en rumiantes. **Archives Medical Veterinary**, v.29, p.2-6, 1997.

AL-KUNANI A, S.; KNIGHT, R.; HASWELL, S. J.; THOMPSON, J. W.; LINDOW, S. W. The selenium status of women with a history of recurrent miscarriage. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v.108, p.1094-1097, 2001.

BARBOSA F. A.; SOUZA G. M. **Efeito dos Microminerais na Reprodução de Bovinos**. 2008. Disponível em <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos>. Acesso em 25/01/2009

BARRY, M. J.; LARSEN, P. R. The role of selenium in thyroid hormone action. **Endocrinology Reviews**, v.13, p.207-219, 1992.

BELL, J. G.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W.; SHANKS, A. M. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, v.53, p.149-157, 1985.

BELL, J. G.; PIRIE, B. J. S.; ADRON, J. W.; COWEY, C. B. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**, v.55, p.305–311, 1986.

BESSER BESSE, J. M.; CANFIELD, T. J.; LA-POINT, T. W. Bioaccumulation of organic and inorganic selenium in a laboratory food chain. **Environmental Toxicology Chemical**, v.12, p.57-72, 1993.

BIRD, S. M.; UDEN, P. C.; TYSON, J. F.; BLOCK, E.; DENOYER, E. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.12, p.785-788, 1997.

BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.387-416, 1997.

DABRZYNSKI, W.; TRAFIKOWSKA, U.; TRAFIKOWSKA, A.; PILECKI, A.; SZYMANSKI, W.; ZACHARA, B. A. Decrease selenium concentration in maternal and cord blood in preterm compared to term deliveries. **Analyst**, v.123, p.93-97, 1998.

DALLINGER, R.; PROSI, F.; SEGNER, H.; BACK, H. Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. **Oecologia**, v.73, p. 91-98, 1987.

DENG, D. F.; HUNG, S. S. O.; TEH, S. J. Selenium depuration: Residual effects of dietary selenium on Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). **Science Total Environment**, v.377, p.224-232, 2007.

EISLER, R. Selenium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. **Fish and Wildlife Service Biological Report**, v.85, p.5-57, 1985.

EL-GAMAL, A. H. E.; EL-GREISY, Z. A.; EL-EBIARY, E. H. Sinergistic effects of vitamins C and E and selenium on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Science Research**, v.3, p.564-573, 2007.

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

EL-SAYED, A. F. M.; MANSOUR, C. R.; EZZAT, A.A. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.248, p.187-196, 2005.

EVANS, D. H. The physiology of fishes. **Boca Raton: CRC Press**. 592p, 1993.

EWAN, R. C. Effect of selenium on rat growth, growth hormones and diet utilization. **Journal Nutrition**, v.106, p.702-709, 1976.

FIALA, E. S.; STARETZ, M. E.; PANDYA, G. A.; BAYOUMY, K.; HAMILTON, S. R. Inhibition of DNA cytosine methyltransferase by chemopreventative selenium compounds, determined by an improved assay for DNA cytosine methyltransferase and DNA cytosine methylation. **Carcinogenesis**, v.19, p.597-604, 1998.

FOSTER, L. H.; SUMAR, S. Selenium in the environment, food and health. **Nutrition Food Science**, v.5, p.17-23, 1995.

FOSTER, D. J.; THODAY, K. L.; BECKETT, G. J. Thiroid hormone deiodination in the domestic cat. **Journal of molecular Endocrinology**, v.24, p.119-126, 2000.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>, <acesso em: 20/03/09>.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2006. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>, <acesso em: 21/03/09>.

GATLIN III, D. M.; WILSON. R. P. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. **Journal Nutrition**, v.114, p.627-633, 1984.

GRIVEAU, J. F.; LE LANNOU, D. Effects of antioxidants on human sperm preparation techniques. **International Journal of Andrology**, v.17, p.225-231, 1994.

HAMILTON, S. J.; HOLLEY, K. M.; BUHL, K. L.; BULLARD, F. A.; WESTON, L. K MACDONALD, S. F. Selenium impacts on razorback sucker, Colorado river, Colorado-I Adults. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.61, p.7-31, 2005.

HAMILTON, S. J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Science Total Environmental**, v.326, p.1-31, 2004.

HAYASHI, K. Roles of thyroid hormone in growth and protein turnover. **Animal Science and Technology**, v.64, p.938-947, 1993.

HILTON, J. W.; HODSON, P. V.; SLINGER, S. J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal Nutrition**, v.110, p.2527-2535, 1980.

HICKS, D. B.; HILTON, J. W.; FERGUSON, H. W. Influence of dietary selenium on the occurrence of nephrocalcinosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal Fish Diseases**, v.7, p.379-389, 1984.

HOFFMAN, D. J.; HEINZ, G. H. Embriotoxicity and teratogenic effects of selenium in the diet of mallards. **Journal Toxicology Environmental Health**, v.24, p.477-490, 1988.

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

KIM, K. W.; WANG, X.; CHOI, S. M.; PARK, G. J.; KOO, J. W.; BAI, S. C. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid, α -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v.34, p.1055-1058, 2003.

KRISTIANSEN, F. Condition in poultry associated with deficiencies of vitamin E in Norway. **Acta Agriculturae Scandinavica Supplement**, v.19, p.51-57, 1973.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Acqua & Imagem. 289 p, 2000.

LEMLY, A. D. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. **Aquatic Toxicology**, v.57, p.39-49, 2002.

LIN, Y. H.; SHIAU, S. Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, v.250, p.356-363, 2005.

LORENTZEN, M.; MAAGE, A.; JULSHAMN, K. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.123, p.359-367, 1994.

MILLER, L. L.; WANG, F.; PALACE, V. P.; HONTELA, A. Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indications in juvenile rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v.83, p. 263-271, 2007.

MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. Uso de selênio na dieta de matrinxã *Brycon cephalus*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, p. 32-47, 2007.

MORRISON, C. M.; MIYAKE, T.; WRIGHT, J. Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). **Journal of Morphology**, v.247, p.172-195, 2001.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of fish. Washington: **National Academy Press**, 114 p, 1993.

PALMER, I. S.; ARNOLD, R. L.; CARLSON, C. W. Toxicity of various selenium derivatives to chick embryos. **Poultry Science**, v.52, p.1841-1846, 1973.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratameto**. Editora EDUEM, Maringá, 2 ed, 305pp, 2002.

PYLE, G. G.; RAJOTTE, J. W.; COUTURE, P. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.61, p.287-312, 2005.

POSTON, H. A.; COMBS, G. F. Interrelationships between requirements for dietary selenium, vitamin E, and L-ascorbic acid by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a semipurified diet. **Fish Health News**, v.8, p.6-7, 1979.

POSTON, H. A.; COMBS, G. F.; LEIBOVITZ, L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical signs. **Journal Nutrition**, v.106, p.892-904, 1976.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 703p, 2001.

REILLY, C. Selenium: a new entrant into the functional food arena. **Trends Food Science Technology**, v.9, p.114-118, 1998.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemistry Society**, v.79, p.3292-3293, 1957.

SINHA, M. P.; SINHA, A. K.; SINGH, B. K.; PRASAD, R. L. The effect of glutathione on the motility enzyme leakage and fertility of frozen goat semen. **Animal Reproduction Science**, v.41, p.237-243, 1996.

SPALLHOLZ, J. E.; PALACE, V. P.; REID, T.W. Methioninase and selenomethionine but not Se-methylselenocysteine generate methylselenol and superoxide in an *in vitro* chemiluminescent assay: Implications for the nutritional carcinostatic activity of selenoamino acids. **Biochemical Pharmacology**, v.67, p.547-554, 2004.

SURAI, P. F.; BLESBOIS, E.; GRASSEAU, I.; CHALAH, T.; BRILLARD, J. P.; WISHART, G. J.; CEROLINE, S.; SPARKS, N. H. C. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120, p. 527-533, 1998.

SURAI, P. F. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. **Word's Poultry Science Journal**, v.58, p.333- 347, 2002.

SURAI, P. F. **Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction**. Nottingham University Press, Nottingham, 2002.

TAKEUCHI, M.; ISHII, S.; OGISO, T. Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution and mortalities of the fertilized eggs and fry in ayu, *plecoglossus altivelis*. **Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory**, v.104, p.111-122, 1981.

TASHJIAN, D. H.; TEH, S. J.; SOGOMONYAN, A.; HUNG, S. S. O. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Aquatic Toxicology**, v.79, p.401-409, 2006.

VALENTI, W. C.; POLLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGUETTI, J. R. **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. CNPQ / Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. 399p., 2000.

WANG, C.; LOVELL, R. T. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.152, p.223-234, 1997.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v.151, p.185-207, 1997.

WATANABE, T.; TAKASHIMA, F. Effect of α -tocopherol deficiency on carp. VI. Deficiency symptoms and changes in fatty acid and triglyceride distribution in adult carp. **Bulletin Japanese Society Science Fish**, v.43, p.819-830, 1977.

CAPÍTULO 2

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE TILÁPIA-DO-NILO

(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM RAÇÕES

SUPLEMENTADAS COM SELÊNIO ORGÂNICO.

RESUMO

Os minerais são essenciais para a reprodução dos peixes, no entanto, as exigências para as espécies tropicais de peixes ainda são pouco conhecidas. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho reprodutivo, o diâmetro do ovo e a qualidade espermática de reprodutores de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas suplementadas com selênio orgânico. Foram utilizados 80 peixes adultos, com peso médio de 121,7 g, previamente sexados e identificados. Os animais foram marcados individualmente e divididos em grupos de quatro peixes (3 fêmeas e 1 macho) e estocados em 20 tanques de 1500 litros. Os peixes foram alimentados com dietas isocalóricas e isoprotéicas contendo cinco diferentes níveis de suplementação com selênio orgânico (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg/kg⁻¹). Durante o período experimental (84 dias) as fêmeas de todas as unidades experimentais foram capturadas a cada três dias para coletar os ovos da boca e os machos capturados mensalmente para a coleta de sêmen. O delineamento experimental aplicado para o estudo do desempenho reprodutivo foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. A análise estatística dos resultados foi realizada com a utilização do programa estatístico SAS 9.0. Ao final do período experimental foi observado que a suplementação com selênio orgânico nos níveis estudados não apresentou diferenças estatísticas ($p > 0,05$) para o desempenho reprodutivo, assim como, para a qualidade espermática e o diâmetro dos ovos.

PALAVRAS-CHAVE: peixes, minerais, reprodução, sêmen, ovo, reprodutores, tilapicultura.

ABSTRACT

The minerals are important for the fish reproduction. However, the requirements for tropical fish aren't defined. The aim of this study was evaluate the reproductive performance, the sperm quality and the diameters eggs of Nile tilapia broodstocks (*Oreochromis niloticus*) fed with supplemented diets contained different levels of organic selenium. Were utilized eighty adult fishes of Nile tilapia with mean weight of 121,7 g, previously identified and sexed. The animals were marked individually and divided into groups of four fish (3 females and 1 male) and stocked in 20 tanks of 1500 liters. The fish were fed with isocaloric and isoproteic diets contained five different levels of supplemented with organic selenium (0; 0,25; 0,5; 0,75 and 1,0 mg/kg). During the experimental period (84 days) the females of all tanks were caught the each three days to collect the egg and males captured monthly for the collect of semen. The experimental design was evaluated with experimental design entirely randomized, contained five treatments and four replicates. Statistical analysis of results was performed using the statistical program SAS 9.0. After 84 days it was observed that supplementation with organic selenium did not affect ($p > 0.05$) reproductive performance, the sperm quality and egg diameter. Based on these results can be concluded that supplementation with organic selenium not affects apparently the reproductive performance of Nile tilapia matrices.

KEYWORDS: fish, mineral, reproduction, semen, egg, broodstocks, tilapia culture

1. INTRODUÇÃO

Com o declínio da produção de peixes capturados é necessário buscar outras formas de se utilizar a biodiversidade aquática, como o cultivo. Para possibilitar e aperfeiçoar esta atividade é fundamental que se tenha conhecimento da reprodução. O desempenho reprodutivo é, na maioria das vezes, fator decisivo sobre a viabilidade econômica do cultivo de uma espécie. A presença de reprodutores sadios e bem nutridos é importante em um plantel quando se deseja altos índices de desempenho e grandes quantidades de juvenis para a engorda.

A alimentação fornece aos peixes os nutrientes essenciais para o desenvolvimento gonadal da fêmea e a performance de seus ovos e larvas. Muitos problemas encontrados durante o desenvolvimento dos ovos estão diretamente relacionados com o regime alimentar dos reprodutores. Para isso técnicas de manejo e nutrição, que melhorem os parâmetros reprodutivos de matrizes de tilápia, devem ser estudadas (El-Sayed *et al.*, 2003).

Apesar da tilápia-do-nilo ser um dos peixes mais cultivados do mundo, ainda são necessário mais estudos sobre a biologia da reprodução da espécie associado a nutrição com minerais, principalmente parâmetros como: viabilidade do sêmen, diâmetro dos ovos, quantidade de ovos, quantidade de desovas e taxa de eclosão.

Micronutrientes, como vitaminas e minerais são essenciais para o crescimento normal, reprodução e saúde dos peixes (Kim *et al.*, 2003). Segundo Watanabe *et al.*, (1997), os minerais são essenciais para a reprodução, devido às suas funções no metabolismo, sendo que as exigências de um mineral no trato reprodutivo podem mudar de acordo com o estágio fisiológico deste tecido durante o ciclo reprodutivo.

Além de proteger as células contra o processo oxidativo e prevenir a ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas, o selênio possui importante papel nas selenoenzimas

como a glutathione peroxidase (GSH-Px), que desempenha um papel fundamental no sistema de proteção antioxidante dos espermatozoides (Watanabe *et al.*, 1997). Portanto este micromineral é essencial para o desenvolvimento e maturação dos espermatozoides.

Em fêmeas, o selênio se concentra nos ovários e exerce importante função metabólica. Apresenta função antioxidante na formação dos ovócitos e na maturação dos folículos que promoveram a ovulação, pela ação da enzima glutathione peroxidase. Essa enzima é vital para a proteção da membrana lipídica dos ovócitos, para que não sofram peroxidação pelos radicais livres, que causariam a ruptura da membrana e danos graves irreversíveis (Barbosa & Souza, 2006).

No entanto, as exigências minerais das diferentes espécies de peixes ainda se encontram muito incipientes, principalmente quando se trata da concentração necessária de minerais como o selênio em dietas para reprodutores de tilápia-do-nilo.

Desta forma o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de selênio orgânico dietário sobre o desempenho reprodutivo de reprodutores de tilápia-do-nilo avaliando os seguintes parâmetros: desempenho reprodutivo, diâmetro dos ovos e a avaliação espermáticas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. LOCAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Peixes Ornamentais e no Setor de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da UNESP de Jaboticabal. O período experimental foi de 84 dias, entre setembro e dezembro de 2006.

2.2. ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Foram utilizados 80 reprodutores adultos de tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus*, com peso médio de 121,7 gramas, previamente sexados e identificados através de um marcador externo fixado na base da nadadeira dorsal. Os animais foram divididos em grupos de quatro peixes (3 fêmeas e 1 macho) e estocados em 20 tanques de 1500 litros que fazem parte de um sistema de recirculação de água, equipado com filtro biológico e trocador de calor para manutenção da temperatura em torno de 28°C.

2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental aplicado para a análise do desempenho reprodutivo, avaliação espermática e diâmetro do ovo foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições.

2.4. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

As principais variáveis físico-químicas da água dos tanques experimentais foram monitorados semanalmente, com determinações do potencial hidrogeniônico (potenciômetro digital YSI, modelo pH 100), concentração de oxigênio dissolvido (oxímetro YSI, modelo 55), alcalinidade total e concentração de amônia total, sendo as duas últimas variáveis determinadas pelos métodos de Golterman *et al.*, (1978). A temperatura média da água foi determinada diariamente com um termômetro de máxima e mínima.

2.5. DIETAS EXPERIMENTAIS

Os peixes foram alimentados durante o período experimental com dietas isocalóricas e isoprotéicas (Tabela 1) contendo cinco diferentes níveis de suplementação com selênio orgânico (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg/kg⁻¹). Depois de misturadas, as rações foram trituradas em moinho de faca com peneira de 2 mm de diâmetro de malha. As dietas foram peletizadas na fábrica de ração do CAUNESP de Jaboticabal e armazenadas no freezer até o momento da utilização. A fonte de selênio orgânico utilizado na suplementação das dietas foi de origem comercial (Selplex[®]) sendo derivado do crescimento de células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) (Rutz *et al*, 2007).

Tabela 1. Ingredientes e composição das dietas experimentais.

Ingredientes	(%)
Farinha de peixe	15,00
Farelo de soja	34,50
Milho	28,70
Farelo de trigo	16,00
Óleo de soja	1,50
Supl. vitamínico e mineral ¹	1,40
Vit. C	0,10
Fosfato bicálcico	2,70
Selênio/ Bagaço de cana	0,10
Total	100,00
Composição calculada/analizada	
Matéria seca	89,04
Proteína bruta	32,29
Proteína digestível	28,18
Extrato etéreo	5,04
ENN	44,90
Fibra bruta	3,69
Cálcio	1,57
Fósforo	0,99
Energia Bruta (kcal/kg)	4331,40
Energia Digestível (kcal/kg)	3348,01

¹Suplemento vitamínico e mineral/kg do produto (*Vitamin and mineral supplement*): Vit. A - 5000.000 UI; Vit. D₃ - 200.000 UI; Vit. E - 5.000 UI; Vit. K₃ - 1.000 mg; Vit C - 15.000 mg; Vit B₁₂ - 4.000 mg; Vit. B₁ - 1.500 mg; Vit. B₂ - 1.500 mg; Vit. B₆ - 1.500 mg; Biotina (*Biotin*) - 50 mg; Ácido fólico (*Folic acid*) - 500 mg; Ácido pantotênico (*Pantothenic Acid*) - 4000 mg; B.H.T. - 12,25 g; Colina (*Choline*) - 40 g; Fe - 5.000 mg; Cu - 500 mg; Mn - 1.500 mg; Co - 10 mg; I - 50 mg; Se - 10 mg e Zn - 5.000 mg.

2.6. DESEMPENHO REPRODUTIVO

A alimentação foi realizada duas vezes ao dia (8:00 e 17:00) até a saciedade aparente, de modo a não haver sobras de ração nos tanques. Os resíduos de matéria orgânica eram retirados diariamente através do método de sifonagem. As biometrias foram realizadas no início do experimento e aos 28, 56 e 84 dias.

Após 15 dias recebendo as rações experimentais as fêmeas de todos os tanques foram capturadas a cada três dias para a coleta dos ovos presentes na boca e os seguintes parâmetros reprodutivos foram avaliados: desovas por fêmea, número de ovos por grama de fêmea e a relação entre o total de larvas e o total de ovos viáveis produzidos.

2.7. COLETA DOS OVOS

Uma amostra dos ovos coletados durante o manejo reprodutivo foi fixada em formol a 10% por 24 horas, em seguida, passados para álcool etílico 70% para a conservação do material biológico.

Os ovos foram analisados através de um estereomicroscópio com ocular micrométrica, utilizando-se como unidade o milímetro (mm). Devido ao formato ovóide dos ovos, foram obtidas duas medidas: o diâmetro maior (DM) (medida entre as extremidades do maior eixo, saindo da base ao pico do ovo) e diâmetro menor (dm) (região mais larga cortando horizontalmente o comprimento) (Figura 1). Para isso utilizou-se 10 ovos de cada desova, totalizando 1476 ovos avaliados durante todo o período experimental.

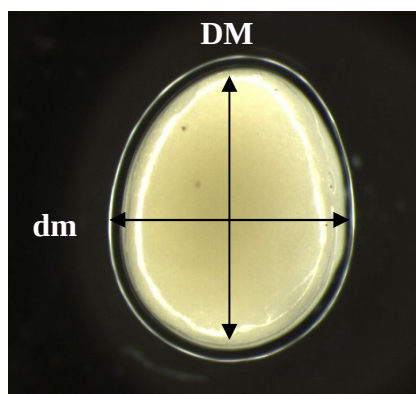


Figura 1: Ovo de tilápia-do-nilo com setas mostrando como foram feitas as medidas de diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (dm) em mm.

2.8. AVALIAÇÃO ESPERMÁTICA

Após 15 dias do início do experimento os machos de todos os tanques foram capturados mensalmente para a coleta de sêmen. Os animais foram retirados dos tanques e secos na região da papila urogenital, sendo posteriormente realizada massagem ventral no sentido antero-posterior. Todo o sêmen liberado de cada reprodutor foi armazenado em microtubo de plástico e acondicionado em gelo, ao abrigo da luz, para posterior análise laboratorial (Ohta *et al.*, 2001). Após a coleta, os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de motilidade (TM), porcentagem de motilidade (PM) e viabilidade (V). Todas as avaliações das características seminais foram realizadas segundo o método descrito por Rodrigues (1992).

Para a avaliação do tempo e da porcentagem de motilidade do sêmen foi utilizado água destilada tamponada como solução ativadora. Para isso, 2 μL de sêmen foi misturado com 1998 μL da solução ativadora. A solução foi rapidamente homogeneizada, retirando-se uma amostra de 10 μL , a qual foi colocado em uma lâmina e observado sob microscópio de luz previamente focalizado em aumento de 400X. A duração da motilidade espermática foi medida com auxílio de um cronômetro e foi considerada desde a ativação até o momento em que as células espermáticas cessavam os movimentos. A análise da porcentagem de motilidade dos espermatozóides baseou-se na estimativa da porcentagem de células móveis no campo focalizado, utilizando uma escala arbitrária de 0 a 100%.

Para a determinação da viabilidade (porcentagem de espermatozóides vivos), 2 μL de sêmen foi misturado com 10 μL de Eosina – Nigrosina e realizado um esfregaço. Em microscópio foi registrado a porcentagem de espermatozóides vivos (translúcidos) e a porcentagem de espermatozóides mortos (cor de rosa) através da contagem de 200

células tendo-se por base a classificação de células espermáticas íntegras e células espermáticas danificadas.

2.9. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas através do teste F para análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAS 9.0.

3. RESULTADOS

3.1. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Os resultados das análises das principais variáveis físico-químicas da água dos tanques dos reprodutores, durante o período experimental, foram os seguintes: pH $6,91 \pm 0,29$; concentração de oxigênio dissolvido $6,84 \pm 0,56$ mg/L; alcalinidade total $30,09 \pm 4,94$ mg/L; amônia total $26,62 \pm 11,13$ µg/L e temperatura $27,8 \pm 1,91$ °C.

3.2. DESEMPENHO REPRODUTIVO

Os resultados de desempenho reprodutivo das fêmeas estão apresentados na Tabela 2. A suplementação com selênio orgânico não apresentou diferenças estatísticas ($p > 0,05$) em nenhum parâmetro avaliado.

Tabela 2. Média e desvio padrão dos parâmetros reprodutivos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico, durante 84 dias.

	Nível de suplementação com selênio (mg/Kg)					CV ¹ (%)
	0	0,25	0,50	0,75	1,0	
Desovas por fêmea	$3,00 \pm 1,4$	$3,08 \pm 1,5$	$2,00 \pm 1,3$	$3,12 \pm 1,6$	$2,50 \pm 1,1$	50,5
Nº ovos/grama de fêmea	$5,13 \pm 1,5$	$4,64 \pm 1,3$	$4,49 \pm 1,4$	$4,17 \pm 1,4$	$4,05 \pm 1,6$	31,9
Eclosão das larvas/ovos viáveis	$0,78 \pm 0,1$	$0,70 \pm 0,2$	$0,61 \pm 0,2$	$0,66 \pm 0,3$	$0,60 \pm 0,1$	25,3

1-Coeficiente de Variação

3.3. DIÂMETRO DO OVO

As médias do diâmetro maior e menor dos ovos foram muito semelhantes entre os tratamentos e nenhum parâmetro avaliado apresentou diferenças estatísticas ($p > 0,05$) pela utilização de selênio na dieta dos reprodutores (Tabela 3).

Tabela 3. Média e desvio padrão (mm) do diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (dm) dos ovos de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico.

Diâmetros	Nível de suplementação com selênio (mg/Kg)					CV ¹ (%)
	0	0,25	0,50	0,75	1,0	
DM	$2,62 \pm 0,19$	$2,56 \pm 0,17$	$2,61 \pm 0,17$	$2,6 \pm 0,15$	$2,61 \pm 0,14$	6,14
dm	$2,05 \pm 0,11$	$1,98 \pm 0,14$	$2,02 \pm 0,11$	$1,96 \pm 0,13$	$1,99 \pm 0,12$	5,92

1-Coeficiente de Variação.

3.4. AVALIAÇÃO ESPERMÁTICA

Os resultados da avaliação espermática dos reprodutores de tilápia estão apresentados na tabela 4. Os parâmetros avaliados não apresentaram diferenças estatísticas entre os níveis de suplementação de selênio orgânico.

Tabela 4. Parâmetros espermáticos de reprodutores de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de selênio orgânico.

	Nível de suplementação com selênio (mg/Kg)					CV ⁴ (%)
	0	0,25	0,50	0,75	1,0	
PM (%) ¹	89±0,05	90±0,07	82±0,09	81±0,07	86±0,09	8,84
TM (Seg) ²	557,2±236	386,0±110	540,5±245	315,6±99	427,6±148	40,9
V (%) ³	92±0,04	91±0,05	90±0,03	94±0,03	91±0,05	4,94

1-PM(%) Porcentagem de motilidade

2- TM (Segundos) Tempo de motilidade

3- V (%) Viabilidade

4- Coeficiente de variação

4. DISCUSSÃO

4.1. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Os valores médios das principais variáveis físico-químicas da água dos tanques experimentais mantiveram-se dentro da faixa ideal preconizada por Kubitzka (2000) para o adequado desenvolvimento dos peixes durante todo o período do estudo.

4.2 DESEMPENHO REPRODUTIVO

O presente estudo não demonstrou a eficácia do selênio sobre o desempenho reprodutivo dos peixes. Isto pode ter ocorrido devido às altas variações observadas nos resultados já que os parâmetros avaliados apresentaram coeficientes de variação bastante elevados, o que pode ter impedido a detecção de diferenças entre os tratamentos. Estudos com um número maior de reprodutores provavelmente reduziria a variação natural existente entre os indivíduos, podendo produzir resultados diferentes. Além disso, outros fatores podem ter contribuído com a não detecção de diferenças estatísticas, entre eles a baixa combinação entre o selênio e vitaminas. Os resultados de algumas pesquisas demonstram que o desempenho dos animais só é afetado quando ocorre a combinação entre minerais e vitaminas. A combinação entre 0,25 mg/kg de selênio, 100 mg/kg de vitamina C e 300 mg/kg de vitamina E já havia sido relatado por aumentar a reprodução e o desempenho de *Cyprinus carpio* (Watanabe & Takashima (1977). El-Gamal *et al.*, (2007), observaram um efeito sinérgico positivo entre o selênio (0,2 mg/kg) e as vitaminas E (34 mg/kg) e C (120 mg/kg) nos resultados de performance reprodutiva para matrizes de tilápia. A interação entre esses nutrientes também melhorou os parâmetros de sobrevivência e eclosão em *Plecoglossus altivelis* (Takeuchi *et al.*, 1981) e aumentou a fecundidade e a porcentagem de ovos viáveis em *Sparus aurata* (Izquierdo *et al.*, 2001). Estudos com outros animais também relatam a importância da interação entre selênio e vitaminas (Jacyno *et al.*, 2002).

Jacyno *et al.* (2002), observaram aumento da atividade sexual e da performance reprodutiva de javalis suplementados com 0,2 mg/kg de selênio orgânico e 60 mg/kg de vitamina E. Alonso *et al.* (1997), constataram que a suplementação com 0,25 mg/kg de selênio e 20 mg/kg de vitamina E ajudou na prevenção de alterações na reprodução, fundamentalmente na época do parto e que vacas suplementadas com a mistura selênio-vitamina E apresentaram alta taxa de concepção, diminuindo o número de inseminações necessárias para conseguir a fertilização e diminuía o período entre partos.

As vitaminas em conjunto com o selênio constituem os principais agentes antioxidantes no organismo (Devlin, 1998). Segundo McDowell (1999) a função metabólica do selênio está intimamente ligada a vitamina E, onde ambos atuam protegendo membranas biológicas contra a degeneração oxidativa.

Segundo Harper (1973), o selênio não pode proteger os componentes teciduais ou celulares que apresentam baixa concentração da enzima glutathione peroxidase. No entanto, esses podem ser protegidos pela vitamina E, que atua como antioxidante por diferentes mecanismos, o qual não necessita da glutathione peroxidase.

A dieta utilizada no experimento apresentava a inclusão de suplementos vitamínicos em sua composição, no entanto, os níveis estão abaixo daqueles utilizados por Watanabe & Takashima (1977) e El-Gamal *et al.*, 2007. Além da utilização do complexo vitamínico estes autores realizaram a suplementação de suas dietas com vitaminas C e E, o que tornaram os níveis maiores do que da dieta experimental.

Além da baixa combinação entre selênio e vitaminas, outros fatores podem ter influenciado nos resultados do trabalho. O período experimental (84 dias) empregado no estudo pode ter sido insuficiente para a detecção de efeitos significativos, já que o tempo empregado na maioria dos estudos citados ultrapassam 100 dias de

experimentação. O manejo reprodutivo realizado a cada três dias também pode ter contribuído com os baixos resultados obtidos, principalmente na quantidade de desovas, já que a captura constante dos peixes pode ter ocasionado um desgaste fisiológico e consequentemente um stress do organismo animal. Segundo Carragher *et al.* (1989), os peixes quando são expostos a situações estressantes severas ou de longa duração, têm seus processos reprodutivos perturbados devido à depressão da glândula pituitária e de níveis plasmáticos de gonadotropinas. Diversas pesquisas têm demonstrado a capacidade do estresse do manejo em inibir o desempenho reprodutivo de peixes (Small, 2004).

Além disso, a inclusão de 15% de farinha de peixe na dieta experimental já pode ter suprido as necessidades de selênio para os reprodutores, não necessitando de uma nova suplementação. De acordo com Rostagno, (2005) a farinha de peixe apresenta em média 0,79 mg/kg de selênio o que na dieta do presente estudo significa 0,22 mg/kg de selênio, valor que poderia ter suprido as necessidades dos peixes (Watanabe *et al.*, 1997).

4.3. DIÂMETRO DO OVO

Vários autores afirmam que o tamanho de ovos em peixes pode ser influenciado pelas condições físicas e fisiológicas dos reprodutores, devido à alimentação, idade, critérios de seleção e condições ambientais (Zhukinskiy & Gosh, 1988; Kjorsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997; Bonislawski *et al.*, 2000). No entanto, o diâmetro dos ovos das matrizes de tilápia-do-nilo não foi influenciado pela suplementação de selênio orgânico no presente experimento. São escassos os estudos relacionando o uso de selênio com o diâmetro dos ovos de peixes e outros animais. El-Gamal *et al.* (2007), avaliando o efeito sinérgico de selênio e vitaminas em reprodutores de tilápia-do-nilo obtiveram resultados bastante irregulares, no entanto, os autores observaram um

pequeno aumento no percentual de ovos com diâmetro acima de 2,0 mm em matrizes que receberam a dieta contendo selênio, vitamina C e D.

Por outro lado, Fernandes *et al.* (2008), e Sahin *et al.* (2008), testando selênio orgânico e inorgânico na dieta de frangos não constataram diferenças na qualidade dos ovos produzidos pelas aves.

El-Sayed *et al.* (2003; 2005), relatam que os nutrientes da dieta não apresentaram influência no diâmetro dos ovos de matrizes de tilápia-do-nilo. Segundo Peters (1983) a tilápia, assim como outros ciclídeos, apresentam variações no diâmetro e na quantidade de ovos de acordo com as condições ambientais, podendo produzir ovos com grande diâmetro, porém em menor quantidade, ou produzir ovos com pequeno diâmetro, no entanto, em maior quantidade. O diâmetro dos ovos de tilápia parece estar mais ligado às táticas reprodutivas apresentada pela espécie do que com a própria suplementação alimentar.

4.4. AVALIAÇÃO ESPERMÁTICA

Assim como no desempenho reprodutivo os parâmetros espermáticos apresentaram coeficientes de variação bastante elevados. O tempo de motilidade dos espermatozoides apresentou altos valores de variação entre os tratamentos, o que pode ter impedido a detecção de diferenças entre os tratamentos. Estudos com um número maior de reprodutores provavelmente reduziria a variação natural existente entre os indivíduos, podendo produzir resultados diferentes.

O parâmetro mais utilizado para a avaliação seminal é a motilidade e, dentro desta variável, as células espermáticas apresentam características espécie-específicas, como por exemplo: o início, duração e padrão da motilidade (Cosson *et al.*, 2000).

Os resultados encontrados para porcentagem e tempo de motilidade espermática de reprodutores de tilápias suplementadas com selênio orgânico não variaram entre os

tratamentos. Não foi encontrado na literatura estudos em que se avalia o efeito do selênio na qualidade espermática de peixes. No entanto, estudos avaliando a porcentagem de motilidade espermática de outros animais suplementados com selênio e vitamina E, mostram que os resultados variam de acordo com a substância utilizada para ativar os espermatozóides.

Jacyno *et al.* (2002), testando o efeito da combinação entre 0,2 mg/kg de selênio com 60 mg/kg de vitamina E na porcentagem de motilidade de suínos, não encontraram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Em outro estudo com caprinos a adição de 0,1 mg/kg de selênio com 0,3 mg/kg de vitamina E também não alterou a motilidade espermática dos animais (Xavier *et al.*, 2008). Esses autores utilizaram como solução ativadora dos espermatozóides bicarbonato de sódio 1%. Entretanto, Marin-Guzman *et al.* (1997), utilizando uma mistura de citrato e bicarbonato de sódio como solução ativadora, observaram que dietas suplementadas com 0,5 mg/kg de selênio orgânico e 220 mg/kg de vitamina E para suínos aumenta significativamente a porcentagem de motilidade espermática dos animais.

Com relação ao tempo de motilidade dos espermatozóides, este parâmetro parece variar muito entre as espécies, podendo ser de quatro a seis minutos, como observado em *Acipenser sturio* (Cosson *et al.*, 2000), ou de 20 a 25 segundos de duração em *Rainbow trout* (Glogowski *et al.*, 2000). Em algumas espécies marinhas com fertilização interna, como o *Macrozoarces americanus*, a duração da motilidade pode exceder 48 horas (Yao *et al.*, 1999), uma vez que a motilidade em peixes marinhos é maior em relação aos peixes de água doce (Dreanno *et al.*, 1997).

Os principais problemas de pesquisas em motilidade espermática consistem em sua curta duração, e na dificuldade de se obter uma mistura homogênea do sêmen com a solução ativadora, no momento da análise (Cosson *et al.*, 1999). É interessante observar

ainda, que os espermatozóides de algumas espécies apresentam a membrana celular intacta, o que causa redução na sua motilidade (Mojica, 2004). Isto quer dizer, que os espermatozóides podem precisar de algum componente na solução ativadora, para aumentar sua porcentagem de motilidade. Ou ainda, como sugeriram Ohta *et al.* (2001), as condições iônicas do meio ambiente ao redor do espermatozóide têm um efeito direto no potencial da motilidade dos espermatozóides. Diante disso, observa-se que a porcentagem de motilidade dos espermatozóides de peixes está mais ligado a solução ativadora utilizada do que com a própria suplementação dos reprodutores. Enquanto, o tempo de motilidade é um parâmetro espécie-específico, que varia muito com relação à espécie.

Os resultados obtidos para viabilidade espermática (porcentagem de espermatozóides vivos) também não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Porém os resultados obtidos estão próximos ao observado para outras espécies de peixes como a piracanjuba (97,5%), jundiá (96,6%), e piraputanga (94,1%) (Mojica, 2004). Isto indica que a suplementação com selênio não afetou de forma negativa a viabilidade espermática dos animais.

Segundo Way *et al.* (1994), a manutenção da viabilidade dos espermatozóides é importante para o sucesso da fecundação. Marin-Guzman *et al.* (1997), observou que suínos suplementados com 0,5 mg/Kg de selênio orgânico e vitamina E produziu maior quantidade espermatozóides viáveis do que os tratamentos sem a suplementação. Estes autores ainda constataram que os animais que não foram suplementados com selênio e vitamina E produziam espermatozóides com caudas danificadas. Ainda segundo este autor, a combinação entre antioxidantes protege diretamente a morfologia dos espermatozóides contra danos causados pelo processo oxidativo, no qual pode afetar diretamente a porcentagem de espermatozóides normais.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a suplementação com selênio orgânico em até 1mg/kg na dieta para reprodutores de tilápia-do-nilo não trouxeram resultados significativos com relação aos parâmetros avaliados. No entanto, a realização de estudos com um período experimental maior provavelmente poderá indicar melhores efeitos na utilização deste mineral.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, M. L.; MIRANDA, M.; HERNANDEZ, J.; CASTILLO, C.; BENEDITO, J. L.; Glutathione peroxidase (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de Selenio en rumiantes. **Archives Medical Veterinarian**, v.29, p.2-4, 1997.

BARBOSA F. A.; SOUZA G. M. **Efeito dos Microminerais na Reprodução de Bovinos**, 2008. Disponível em <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos>. Acesso em 25/01/2009.

BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; WINNICKI, A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v.30, p.61-71, 2000.

BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.387-416, 1997.

CARRAGHER, J. F.; SUMPTER, J. P.; POTTINGER, T. G.; PICKERING, A.D. The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout. *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. **General Comparative Endocrinology**, v.76, p.310-321, 1989.

COSSON, J.; BILLARD, R.; CIBERT, C.; DRÉANNO, C. Ionic factors regulating the motility of fish sperm in: **The Male Gamete**, v.16, p.161-186, 1999.

COSSON, J.; LINHART, O.; MIMS, S.; SHELTON, W.; RODINA, M. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. **Journal Fish Biology**, v.56, p.1348-1367, 2000.

DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 4.ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1998.

DREANNO, C.; SUQUET, M.; QUEMENER, L. Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa. **Theriogenology**, v.48, p.589-603, 1997.

EL-GAMAL, A. H. E.; EL-GREISY, Z. A.; EL-EBIARY, E. H. Sinergistic effects of vitamins C and E and selenium on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Science Research**, v.3, p.564-573, 2007.

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

EL-SAYED, A.F.M.; MANSOUR, C.R.; EZZAT, A.A.; Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v. 248, p.187-196, 2005.

FERNANDES, J. I. M.; MURAKAMI, A. E.; SAKAMOTO, M. I.; SOUZA, L. M. G.; MALAGUIDO, A.; MARTINS, E. M. Effects of Organic Mineral Dietary Supplementation on Production Performance and Egg Quality of White Layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, p.59-65, 2008.

GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. London: Blackweel Science Publication, 214 p, 1978.

GLOGOWSKI, J.; KWASNIK, M.; PIROS, B.; DABROWSKI, K.; GORYCZKO, K.; DOBOSZ, S.; KUZMININSKI, H.; CIERESZKO, A. Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success. **Aquaculture Research**, v.31, p.289-296, 2000.

HARPER, H. A. Review of physiological chemistry. 15ed. Los Altos: **Lange Medical Publications**, 1973.

HILTON J. W. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. **Aquaculture**, v.79, p.223-244, 1989.

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

JACYNO, M. K. E.; KAMYCZEK, M. Influence of inorganic Se + vitamin E and organic Se + vitamin E on reproductive performance of young boars. **Agricultural and food Science in Finland**, v.11, p.175-184, 2002.

KIM, K. W.; WANG, X.; CHOI, S. M.; PARK, G. J.; KOO, J. W.; BAI, S. C. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid, α -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v.34, p.1055-1058, 2003.

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

KUBITZA, F. **Tilápia: Tecnologia e produção comercial**. Ed. Divisão de biblioteca e documentação da USP. Jundiaí. 285p, 2000.

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; CHUNG, Y. K.; PATE, J. L.; POPE, W. F. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. **Journal Animal Science**, v.75, p.2994-3003, 1997.

McDOWELL, L. R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3 ed., **University of Florida** , 92 p., 1999.

MOJICA, C. A. P. **Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei)**. 2004. 82p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal, 2004.

OHTA, H.; UNUMA, T.; TSUJI, M.; YOSHIOKA, M.; KASHIWAGI, E. Effects of bicarbonate ions and pH on acquisition and maintenance of potential for motility in ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck et Schlegel (Osmeridae), spermatozoa. **Aquaculture Research**, v.32, p.385-392, 2001.

PETERS, H. M. Fecundity, egg weight and oocyte development in tilapia (Cichlidae, Teleostei). **International Center for Living Aquatic Resources Management**. Manila, Philippines, 28 pp, 1983.

RODRIGUEZ, M. **Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces**. Ed. A.G.T. 79 p., 1992.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F., LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2ªed-Viçosa:UFV, Departamento de zootecnia, 186p, 2005.

RUTZ, F.; PAN, E. A.; BRAGA, G. **Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves**, 2007. Disponível em: <http://www.avewold.com.br>, <acesso em: 20/07/09>.

SAHIN, N.; MUHITTIN, O.; SAHIN, K.; KUCUK, O. Supplementation with Organic or Inorganic Selenium in Heat-distressed Quail. **Biology Trace Element Research**, v.122, p.229–237, 2008.

SMALL, B. C. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. **Journal Fish Biology**, v.64, p.589-596, 2004.

TAKEUCHI, M. S.; ISHII, T.; OGISO, A. Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution and mortalities of the fertilized eggs and fry in ayu, *plecoglossus altivelis*. **Bulletin Tokai Regional Fish Reserch Laboratory**, v.104, p.111-122, 1981.

XAVIER, G. C.; MAYONE, A. C. M; SOARES, P. C; JUNIOR, V. A. S; GUERRA, M. M. P. Suplementação dietética com Selênio e Vitamina E nos parâmetros seminais de caprinos induzidos à insulação escrotal. **Acta Science Animal Science**, v.30, p.103-111, 2008.

WANG, C.; LOVELL, R. T. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.152, p.223-234, 1997.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v.151, p.185-207, 1997.

WATANABE, T.; F. TAKASHIMA. Effect of α -tocopherol deficiency on carp. VI. Deficiency symptoms and changes in fatty acid and triglyceride distribution in adult carp. **Bulletin Japanase Society Science Fish**, v.43, p.819-830, 1977.

WAY, A. L.; HENAULT, M. A.; KILLIAN, G. J. Comparison of four staining methods for evaluating acrosome status and viability of ejaculated and cauda epididymal bull spermatozoa. **Theriogenology**, v.43, p.1301-1316, 1994.

YAO, Z.; RICICHARDSON, G.; CRIM, L. A diluent for prolonged motility of ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.) sperm. **Aquaculture**, v.174, p.183–193, 1999.

YAO, Z.; CRIM, L.; RICHARDSON, G.; EMERSON, C. Motility, fertility and ultrastructural changes of ocean pout (*Macrozoarces americanus* L) sperm after cryopreservation. **Aquaculture**, v.181, p.361-375, 2000.

ZHUKINSKIY, V. N.; GOSH, R. I. Criteria of biological quality of eggs of commercial fishes and a method for rapid assessment. **Journal of Ichthyology**, v.28, p.106-114, 1988.

CAPÍTULO 3

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO EM RAÇÕES PARA REPRODUTORES DE TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*): DESENVOLVIMENTO INICIAL E DESEMPENHO PRODUTIVO DA PROGÊNIE.

RESUMO

A importância de estudos com desempenho reprodutivo dos organismos aquáticos está focado na busca de melhores índices de produção além de contribuir para a preservação e o manejo adequado de populações naturais. Para a produção de juvenis de tilápias em quantidade e qualidade que supram a crescente demanda de mercado, é preciso atenção especial na nutrição dos reprodutores. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação do selênio orgânico em dietas para reprodutores de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) através do desenvolvimento inicial e do desempenho das progênes. Reprodutores, com peso médio de $121,7 \pm 36,9$ foram alimentados durante 84 dias com cinco dietas isocalóricas e isoprotéicas contendo diferentes níveis de suplementação com selênio orgânico (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg kg^{-1}). Periodicamente era verificada a presença de ovos na boca das fêmeas sendo as desovas coletadas e transferidas para as incubadoras. Após a eclosão e a absorção do saco vitelínico, as larvas de cada tratamento foram coletadas para realização das biometrias de desenvolvimento inicial. Para avaliar o desempenho da progênie. Larvas de cada tratamento foram divididas em quatro aquários e alimentadas durante 30 dias com ração (45% PB) contendo 60 miligramas de 17 α -metil testosterona por kilograma de ração, de acordo com o protocolo para inversão de sexo. O delineamento experimental para a avaliação do desenvolvimento inicial e a performance produtiva da progênie foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. As progênes oriundas de matrizes que foram suplementadas com 0,75 e 1,00 mg/kg de selênio orgânico apresentaram os melhores resultados ($p < 0,05$) de desenvolvimento inicial em relação aos demais níveis de selênio avaliados. Já o desempenho produtivo, das progênes provenientes de matrizes que receberam a suplementação com 0,50 mg de

selênio orgânico apresentaram maior ganho de peso ($p < 0,05$) em relação aquelas larvas cujos pais receberam a dieta sem suplementação.

PALAVRAS-CHAVE: larvas, minerais, nutrição, peixe, reprodução, reprodutores.

ABSTRACT

The importance of study the reproductive performance of aquatic animal is increase the production index beyond to contribute for the preservation the adequate handling of natural populations. Therefore, the aim the study was availed the effect in the supplementation of the organic selenium in the diet of Nile tilapia broodstock through of the initial development and progeny performance. Nile tilapia broodstock, with average weight of 121,7 g were supplied with five diets isocaloric and isoproteic contained levels different of organic selenium (0,00; 0,25; 0,50; 0,75 and 1,00 mg/kg). Periodically was verified the presence the eggs in the females mouth and respective spawning were colleted and stocked in hatchery. After the hatching and absortion of the yolk salc fry of each treatments were collected to achieve biometric of initial development. To evaluate the progeny performance, fry of each treatments were divided in four tanks and fed during 30 days with diet (45% CP) contained 60 mg of 17 α -metil testosterone per kg, in according whit protocol for sex inversion. The experimental design to evaluate the initial development and productive performance of the progeny was interelly randomized with five treatments and four replicates. The initial development of the progeny on which the broodstock were supplied with 1,0 mg/kg organic selenium showed satisfactory results ($p < 0,05$) in standard length, total length, head length and trunk length in relation to other levels of selenium. The weight gain showed the best results in the larvae in which the broodstocks received 0,75 mg/kg de organic selenium. Already in the performance progeny supplementation with 0.50 mg of organic selenium improved ($p < 0.05$) weight gain of the larvae for those that received the control diet.

KEYWORDS: larvae, mineral, nutrition, fish, reproduction, broodstocks.

1. INTRODUÇÃO

O selênio é reconhecido como elemento essencial para os animais desde 1957. Este mineral está presente em quase todos os alimentos da dieta animal, em quantidades variáveis e em formas desde aquelas de baixa até alta disponibilidade. É um dos microminerais cuja essencialidade é indiscutível, mas cujos limites entre níveis essenciais e tóxicos são bastante estreitos (Andriguetto *et al.*, 1983).

O selênio atua principalmente como um antioxidante, para proteger as membranas da célula e prevenir a geração de radicais livres, diminuindo assim o risco a doenças (Rang, 2001). São citadas na literatura diversas alterações físicas e metabólicas ligadas à deficiência de selênio em animais. Entre elas destacam-se distrofias musculares, letargia, perda do apetite, redução dos tonos musculares e mortalidade (Poston & Combs, 1979). Dentre as alterações produzidas pela deficiência dietética de selênio, incluem-se também aquelas que afetam a reprodução. Em todas as espécies animais a deficiência do elemento ocasiona algum tipo de desordem reprodutiva em machos ou fêmeas (Noguchi *et al.*, 1973). A combinação entre selênio e as vitaminas C e E, já é relatado por aumentar a reprodução e o desempenho de *Cyprinus carpio* (Watanabe & Takashima, 1977), sobrevivência e eclosão em *Plecoglossus altivelis* (Takeuchi *et al.*, 1981) e maior porcentagem de ovos viáveis e fecundidade em *Sparus aurata* (Izquierdo *et al.*, 2001). Segundo Watanabe *et al.* (1997), a deficiência deste mineral também resulta em redução no crescimento e causa mortalidade das larvas de peixes. El-Sayed *et al.* (2003) já havia constatado a importância dos nutrientes da dieta das matrizes de tilápia-do-nilo no desempenho de suas larvas.

Muitos dos problemas encontrados durante o desenvolvimento larval dos peixes estão diretamente relacionados com o regime alimentar e nutrição dos reprodutores (Izquierdo *et al.*, 2001). Desta forma, a nutrição de reprodutores é essencial para o

desenvolvimento gonadal das fêmeas e a performance de seus ovos e larvas (Santiago *et al.*, 1981; Gunasekera *et al.*, 1997).

Como existe pouca informação sobre o efeito dos minerais em dietas para reprodutores de tilápia-do-nilo na performance de suas progênies, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial e desempenho produtivo de larvas provenientes de matrizes de tilápia-do-nilo alimentadas com rações suplementadas com selênio orgânico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Peixes Ornamentais e no Setor de Tilapicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP de Jaboticabal durante 30 dias.

2.2. ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Para avaliar o desenvolvimento inicial das progênies foram coletados os ovos encontrados na boca das matrizes e estocados em incubadoras individuais de 2 litros de capacidade e fluxo de água contínuo. Após a eclosão e a absorção do saco vitelínico, 25 larvas de cada tratamento foram coletadas, insensibilizadas e mortas com benzocaína de acordo com Gontijo *et al.*, (2003) e fixadas em formol a 10% por 24 horas, e em seguida, passadas para álcool etílico 70%.

Para avaliar o desempenho das progênies de matrizes de tilápia, 280 larvas de cada tratamento foram separadas e divididas em quatro aquários de polietileno com capacidade de 120 litros, totalizando vinte unidades experimentais. Cada aquário era equipado com filtro de espuma e aquecedor para manutenção da temperatura.

2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado para analisar o desenvolvimento inicial e a performance produtiva das progênies foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg/kg⁻¹) e quatro repetições.

2.4. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

As variáveis físico-químicas da água das incubadoras, onde foi coletado as progênies iniciais, e dos aquários, onde foi realizado o desempenho da progênie, foi monitorada semanalmente com determinações do potencial hidrogeniônico (potenciômetro digital YSI, modelo pH 100), oxigênio dissolvido (oxímetro YSI, modelo 55), alcalinidade total e amônia total, sendo as duas últimas variáveis

determinadas pelos métodos de Golterman *et al.*, (1978). A temperatura média da água foi determinada diariamente com um termômetro de máxima e mínima.

2.5. DIETAS EXPERIMENTAIS

Para avaliar o desempenho produtivo das progênies foi utilizada uma ração comercial em pó (45% PB) com 60 miligramas de 17 α -metiltestosterona por kg para proporcionar a reversão sexual dos peixes, os animais foram alimentados quatro vezes ao dia por um período de 30 dias.

2.6. DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PROGÊNIE

Para a avaliação do desenvolvimento inicial das larvas foram realizadas biometrias determinando-se o comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento da cabeça (CC), comprimento do tronco (Ct) e peso final (PF) (Figura 1). Para a realização das medidas foi utilizado um estereomicroscópio, utilizando-se como unidade o milímetro (mm).

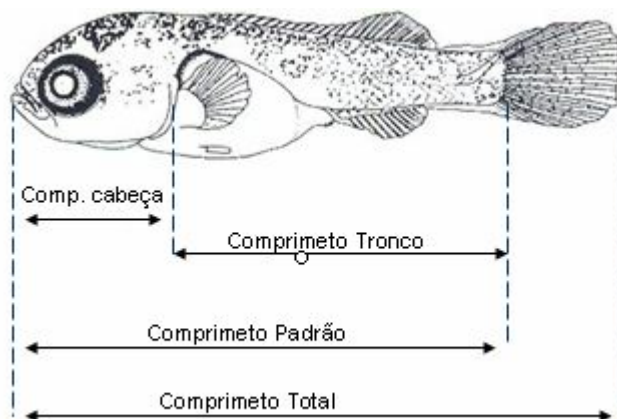


Figura 1: Medidas utilizadas na biometria.

2.7. DESEMPENHO PRODUTIVO DA PROGÊNIE

Para determinar o desempenho produtivo da progênie, foram realizadas biometrias no início e após trinta dias de experimentação e os seguintes parâmetros foram avaliados: sobrevivência (S%), ganho de peso (GP) e conversão alimentar aparente (C.A.).

A sobrevivência foi calculada dividindo-se o número de peixes aos 30 dias pelo número de peixes inicial de cada parcela multiplicando por 100.

$$S (\%) = \frac{\text{Número de peixes final}}{\text{Número de peixes inicial}} \times 100$$

O ganho de peso dos peixes foi calculado pela diferença entre os resultados de peso médio final (PMF) e inicial (PMI) dos peixes de cada replica.

$$GP(g) = PMF(g) - PMI(g)$$

A conversão alimentar aparente foi calculada dividindo-se os resultados de consumo da ração (CR) pelo ganho de peso (GP) dos peixes obtidos no período.

$$CA = \frac{(\text{Consumo total de ração g})}{(\text{Ganho de peso dos peixes g}) \times (\text{n}^\circ \text{ de peixes na parcela})}$$

2.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas através do teste F para análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan para comparação de médias, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAS 9.0. Os dados de sobrevivência foram transformados em arcoseno $\sqrt{x}$ antes da análise.

3. RESULTADOS

3.1. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

As médias dos resultados das variáveis físico-químicas da água nas incubadoras foram: pH $7,6 \pm 0,2$; concentração de oxigênio dissolvido $5,5 \pm 1,26$ mg/L; alcalinidade total $134,2 \pm 52,5$ mg/L; amônia total $38,3 \pm 2,3$ µg/L e temperatura $28,4 \pm 0,75^\circ\text{C}$. Já os parâmetros físico-químicos da água dos aquários das progênes, durante todo o período experimental, foram: pH $6,54 \pm 0,10$; oxigênio dissolvido $6,65 \pm 0,42$ mg/L; alcalinidade total $138,8 \pm 28,92$ mg/L; amônia total $9,07 \pm 3,06$ µg/L e temperatura $27,5 \pm 0,55^\circ\text{C}$.

3.2. DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PROGÊNIE

O desenvolvimento inicial (pós-eclosão) de larvas de tilápia estão apresentados na tabela 2. As matrizes suplementadas com 1,00 mg/kg de selênio orgânico produziram larvas com maior comprimento total, comprimento padrão, comprimento da cabeça e comprimento do tronco em relação aos demais níveis de suplementação ($p < 0,05$). O peso apresentou as maiores médias ($p < 0,05$) nas progênes dos reprodutores que receberam 0,75 mg/kg de selênio orgânico em relação aos demais tratamentos.

Tabela 1. Média e desvio padrão dos parâmetros do desenvolvimento inicial pós-eclosão da progênie de matrizes de tilápia-do-nilo.

	Nível de suplementação com selênio (mg/Kg)					CV (%)
	0	0,25	0,50	0,75	1,0	
CT (mm) ¹	$7,74 \pm 0,87^b$	$7,89 \pm 0,77^b$	$7,82 \pm 0,72^b$	$7,93 \pm 0,40^b$	$8,42 \pm 0,81^a$	9,25
CP (mm) ²	$6,36 \pm 0,64^b$	$6,44 \pm 0,54^b$	$6,42 \pm 0,62^b$	$6,52 \pm 0,31^b$	$6,87 \pm 0,49^a$	8,20
CC (mm) ³	$1,95 \pm 0,26^b$	$2,04 \pm 0,21^b$	$2,00 \pm 0,19^b$	$2,03 \pm 0,11^b$	$2,21 \pm 0,22^a$	10,28
Ct (mm) ⁴	$4,31 \pm 0,40^b$	$4,37 \pm 0,33^b$	$4,36 \pm 0,42^b$	$4,40 \pm 0,20^b$	$4,60 \pm 0,32^a$	7,93
P(mg) ⁵	$5,5 \pm 1,64^b$	$6,0 \pm 2,09^b$	$5,0 \pm 2,07^b$	$7,3 \pm 1,84^a$	$4,8 \pm 2,26^b$	34,37

Médias seguidas de letras diferentes na horizontal diferem entre si pelo teste de Duncan ($P > 0,05$).

1- Comprimento total

2- Comprimento padrão

3- Comprimento da cabeça

4- Comprimento do tronco

5- Peso

6- Coeficiente de Variação

3.3. DESEMPENHO DA PROGÊNIE

O desempenho da progênie esta apresentado na Tabela 3. A sobrevivência variou ($p<0,05$) entre os tratamentos, entretanto os resultados encontrados foram bastante irregulares, não permitindo relacionar a suplementação de selênio com a sobrevivência dos peixes.

O ganho de peso, possivelmente influenciado pela sobrevivência, também apresentou variações. Nos tratamentos que tiveram mortalidade elevada, a redução da densidade possibilitou um crescimento maior. Entretanto, ao se comparar somente os tratamentos que tiveram sobrevivência mais alta, observa-se que a suplementação com 0,50 mg/kg de selênio aumentou o ganho de peso ($p<0,05$) em relação as larvas cujos pais receberam a dieta sem suplementação, demonstrando efeito positivo na adição do mineral nas rações. Os resultados de conversão alimentar aparente não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$).

Tabela 2. Média e desvio padrão dos resultados de desempenho de progênies de tilápia-do-nilo, após período de reversão sexual, cujo os pais receberam suplementação de selênio orgânico na dieta.

	Nível de inclusão de selênio (mg/kg)					CV ⁴ (%)
	0	0,25	0,50	0,75	1,0	
S (%) ¹	77,5±10,8 ^a	52,5±7,6 ^b	86,8±11,9 ^a	47,5±9,6 ^b	77,3±3,6 ^a	8,85
GP (mg) ²	760±110 ^c	1140±77 ^a	1040±118 ^a	960±96 ^{ab}	810±36 ^{bc}	9,78
C.A. ³	1,12±0,32	1,12±0,18	1,02±0,06	1,46±0,33	1,15±0,04	19,01

Médias seguidas de letras diferentes na horizontal diferem entre si pelo teste de Duncan ($p<0,05$)

1- Sobrevivência

2- Ganho de peso

3- Conversão alimentar

4- Coeficiente de variação

4. DISCUSSÃO

4.1. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

Os valores médios das variáveis físico-químicas da água se mantiveram dentro da faixa ideal preconizada por Kubitza (2000) para o adequado desenvolvimento da espécie.

4.2. DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PROGÊNIE

Segundo Gunasekera *et al.* (1997), a nutrição dos reprodutores tem efeitos significativos sobre a maturação gonadal, fecundidade e desempenho de ovos e larvas. A importância dos nutrientes da dieta das matrizes de tilápia-do-nilo no desempenho das larvas já havia sido constatada por El-Sayed *et al.*, (2003).

El-Gamal *et al.* (2007), observaram que a combinação entre o selênio e as vitaminas E e C trouxe melhores resultados de performance reprodutiva para matrizes de tilápia e consequentemente melhores taxas de fecundidade, eclosão e sobrevivência das progênes. Isso ressalta a importância do selênio na alimentação de reprodutores. No entanto, não há estudos com peixes relacionando o papel do selênio na nutrição de reprodutores com o desenvolvimento de progênes. Partindo do princípio que o selênio participa de reações no metabolismo e no crescimento dos animais (Watanabe *et al.*, 1997) e que os nutrientes da dieta dos reprodutores têm efeitos significativos no desempenho das larvas (Gunasekera *et al.*, 1997), no presente estudo observou-se que o selênio influenciou positivamente o crescimento e o peso das progênes no qual os pais receberam a dieta contendo 1,0 e 0,75 mg/kg de selênio orgânico. Esse maior crescimento das progênes também pode ser explicado pelo fato do selênio ser um mineral que atua nos processos fisiológicos como no metabolismo da tireóide (Rang *et al.*, 2001). O selênio tem um papel importante na regulação dos hormônios tireoideanos, pois converte o hormônio T4 (tiroxina) em T3 (triiodotironina), essa conversão é

benéfica para o organismo pelo fato do hormônio T3 atuar sobre o crescimento do animal (Hayashi, 1993). Estudos têm demonstrado que dietas suplementadas com selênio apresentam maiores níveis do hormônio T3 quando comparadas com as dietas deficientes em selênio (Chang *et al.*, 2005). Além disso, já foi constatado que o hormônio T3 é transferido dos reprodutores para as proles e que este proporciona um melhor desenvolvimento das progênes (Ayson & Lam, 1993; El-Zibdeh *et al.*, 1996).

As maiores médias observadas no comprimento da cabeça e comprimento do tronco das progênes em que os pais receberam 1,0 mg/kg de selênio orgânico também comprova a eficiência deste mineral. Estudos descrevendo o desenvolvimento inicial da cabeça e do tronco de larvas de peixes têm relatado que o crescimento desses membros está relacionado com o desenvolvimento dos tecidos e dos músculos das larvas (Rodríguez *et al.*, 1989; Balon, 1977; Liem, 1981). De fato já foi observado que o selênio é um componente essencial no desenvolvimento muscular e de alguns tecidos dos peixes (Watanabe *et al.*, 1997), e que a deficiência deste mineral causa redução do tônus muscular (Poston & Combs, 1979) e distrofias (Poston *et al.*, 1976).

4.3. DESEMPENHO DA PROGÊNIE

Poucos trabalhos foram encontrados na literatura relacionando a suplementação de selênio para reprodutores com o desempenho de suas respectivas progênes. No entanto, já é conhecido a importância dos nutrientes da dieta dos reprodutores sobre o desenvolvimento das larvas.

Os melhores resultados observado no ganho de peso das progênes em que os pais receberam 0,5 mg/kg de selênio orgânico demonstra a eficiência da adição do mineral nas rações de reprodutores. Estudos com outros animais também tem constatado esta eficácia. Mahan & Kim (1996) testando dietas suplementadas com selênio orgânico para reprodutores de suíno obtiveram resultados satisfatórios no desempenho das progênes,

além de observaram um aumento na concentração da enzima glutathione peroxidase no leite das reprodutoras, no colostro e em alguns tecidos da progênie. Os autores atribuíram este aumento da concentração da enzima nos tecidos dos animais ao leite consumido pelas progênies.

Mahan *et al.* (1975), também constataram que progênies de suíno na qual os pais receberam a suplementação com o mineral apresentavam altos valores da enzima glutathione no sangue, no fígado, no miocárdio e em alguns músculos em relação as progênies cujo os reprodutores foram alimentados com uma dieta controle. Também já foi constatado que a combinação entre selênio e vitamina E aumenta a atividade das enzimas glutathione peroxidase e tocoferol no sangue e no fígado de progênies de suínos em que os pais receberam a dieta suplementada (Mutetikka & Mahan, 1993).

Estes resultados indicam que o selênio é transferido com eficiência dos reprodutores para as progênies. No presente estudo, o melhor desempenho das larvas onde os pais receberam a dieta suplementada com selênio comprova esta eficácia. Este resultado é positivo, pois um dos principais problemas encontrados durante o desenvolvimento das larvas está diretamente relacionado com o regime alimentar dos reprodutores. Além disso, a larvicultura, na maioria das vezes, é o fator decisivo sobre a viabilidade econômica no cultivo de uma espécie. No entanto, novos estudos devem ser realizados para detalhar precisamente a via de transferência e o local de ação desta enzima em larvas de peixes.

5. CONCLUSÕES

Dietas suplementadas entre 0,5 e 1,0 mg/Kg de selênio orgânico para reprodutores de tilápia-do-nylo, melhoram significativamente o desenvolvimento inicial e o desempenho de suas progênies.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, M. L.; MIRANDA, M.; HERNANDEZ, J.; CASTILLO, C.; BENEDITO, J. L. Glutathione peroxidase (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de Selênio en rumiantes. **Archive Medical Veterinary**, v.29, p.2-6, 1997.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; DE SOUZA, G. A.; FILHO, A.B. **Nutrição Animal**, 2.ed. São Paulo: Editora Livraria Nobel, p.244-247, 1983.
- AYSON, F. D.; LAM, T. J. Thyroxine injection of female rabbitfish *Siganus guttatus* broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. **Aquaculture**, v.109, p.83-93, 1993.
- BALON, E. K. Early ontogeny of *Labeotropheus* Ahl (Mbuna, Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion of advanced protective styles in fish reproduction and development. **Environmental Biology Fish**, v.2, p.147-176, 1977.
- CHANG, W. P.; COMBS, G. F.; SCANES, C. G.; MARSH, J. A. The effects of dietary vitamin E and selenium deficiencies on plasma thyroid and thymic hormone concentrations in the chicken. **Development and Comparative Immunology**, v.29, p.265-273, 2005.
- EL-GAMAL, A. H. E.; EL-GREISY, Z. A.; EL-EBIARY, E. H. Sinergistic effects of vitamins C and E and selenium on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Science Research**, v.3, p.564-573, 2007.
- EL-SAYED, A. F.; MANSOUR, C. R.; EZZAT, A. A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619-632, 2003.
- EL-ZIBDEH, M. K.; TACHIACHIHARA, K.; TSUKASHIMA, Y.; TAGAWA, M.; ISHIMATSU, A. Effect of triiodothyronine injection of broodstock fish on seed production in cultured seawater fish. **Suisan Zoshoku**, v.44, p.487-496, 1996.
- GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. Methods for physical and chemical analysis of freshwaters. London: Blackwell Science Publication, 214 p, 1978.
- GONTIJO, A. M.; DE, M. C.; BARRETO, R.E.; SPEIT, G.; REYES, V.A.V.; VOLPATO, G. L.; SALVADORI, D.M.F. Anesthesia of fish with benzocaine does not interfere with comet assay results. **Mutation Research**, v.534, p.165-172, 2003.
- GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.152, p.205-221, 1997.
- HAYASHI, K. Roles of thyroid hormone in growth and protein turnover. **Animal Science and Technology**, v.64, p.938-947, 1993.

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

KUBITZA, F. **Tilápia: Tecnologia e produção comercial**. Ed. Divisão de biblioteca e documentação da USP. Jundiaí. Ano. 285p, 2000.

LIEM, K. F. Larvae of air-breathing fishes as countercurrent flow devices in hypoxic environments. **Science**, v.211, p.1177-1179, 1981.

MAHAN, D. C.; PENHALE, L. H.; CLINE, J. H.; MOXON, A. L.; FETTER, A. W.; YARRINGTON, J. T. Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny performance. **Journal Animal Science**, v.39, p.536-542, 1974.

MAHAN, D. C.; MOXON, A. L.; CLINE, J. H. Efficacy of Supplemental Selenium in Reproductive Diets on Sow and Progeny Serum and Tissue Selenium Values. **Journal Animal Science**, v.40, p.624-631, 1975.

MAHAN, D. C.; KIM, Y. Y. Effect of inorganic or organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. **Journal Animal Science**, v.74, p.2711-2718, 1996.

MUTETIKKA, D. B.; MAHAN, D. C. Effect of pasture, confinement, and diet fortification with vitamin E and selenium on reproducing gilts and their progeny. **Journal Animal Science**, v.71, p.3211-3218, 1993.

NOGUCHI, T.; CANTOR, A. H.; SCOTT, M. L. Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exsudative diathesis in chicks. **Journal of Nutrition**, v.103, p.1502-1511, 1973.

POSTON, H. A.; COMBS, G. F. Interrelationships between requirements for dietary selenium, vitamin E, and L-ascorbic acid by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a semipurified diet. **Fish Health News**, v.8, p.6-7, 1979.

POSTON, H. A.; COMBS, G. F.; LEIBOVITZ, L. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical signs. **Journal Nutrition**, v.106, p.892-904, 1976.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 703p, 2001.

RODRÍGUEZ, J. A.; ALPÍREZ, O.; MURILLO, R. Desarrollo larval de *Cichlasoma managuense* (Pisces:Cichlidae) en condiciones de laboratorio. **Brenesia**, v.31, p.11-20, 1989.

SANTIAGO, C. B.; BANES-ALDABA, M.; LARON, M.A. Effects of varying crude protein levels on spawning frequency and growth of *Sarotherodon niloticus* breeders. **Aquatic Department Research Reproduction**, v.4, p.5-10, 1981.

TAKEUCHI, M.; ISHII, S.; OGISO, T. Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution and mortalities of the fertilized eggs and fry in ayu, *plecoglossus altivelis*. **Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory**, v.104, p.111-122, 1981.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v.151, p.185-207, 1997.

WATANABE, T.; TAKASHIMA, F. Effect of α -tocopherol deficiency on carp. VI. Deficiency symptoms and changes in fatty acid and triglyceride distribution in adult carp. **Bulletin Japanese Society Science Fish**, v.43, p.819-830, 1977.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O melhor desenvolvimento e desempenho das progênies de tilápia-do-nylo, representado pela suplementação de selênio orgânico na dieta dos reprodutores, demonstrou que o mineral pode ter efeito no metabolismo e no desempenho das larvas. O desafio para as próximas pesquisas é desvendar de que forma o metabolismo das larvas é modificado pelo selênio orgânico e detalhar precisamente a via de transferência (reprodutor - progênie) e o local de ação deste mineral em larvas de peixes. Além disso, sugere-se a realização de trabalhos combinando selênio e vitaminas e com um tempo de duração maior o que pode ser essencial na obtenção de resultados satisfatórios para os reprodutores.

Vale ainda ressaltar as dificuldades encontradas em trabalhar com microminerais como o selênio, pois ainda faltam muitas informações na literatura principalmente relacionadas ao seu metabolismo em peixes.

Estudos sobre a atividade de enzimas antioxidantes, que estejam envolvidas nos processos metabólico do mineral, podem levar a melhor compreensão do papel do selênio no desempenho dos animais.

A suplementação com selênio orgânico na dieta de reprodutores de tilápia-do-nylo, pode ser utilizada para melhorar o desenvolvimento inicial e o desempenho de suas progênies.