

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/01/2021.



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

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

Laís Pedroso Borges

Botucatu- SP

2019



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

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

Laís Pedroso Borges

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira

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

Botucatu- SP

2019

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

Borges, Laís Pedroso.

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

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

Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira

Capes: 20400004

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

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

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

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

A **Prof. Dr^a, Rosicleire Veríssimo Silveira**, por cada ensinamento, conversa e amizade.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

A todos, meu muito OBRIGADA!!

POSSO TODAS AS COISAS NAQUELE QUE ME FORTALECE!!

Filipenses 3:13

RESUMO

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

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

ABSTRACT

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

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

SUMÁRIO

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

1. INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6. CONCLUSÃO

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

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

7. REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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