

Níveis de energia digestível na dieta de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval

Rodrigo Diana Navarro^{1*}, Sérgio Luis Pinto da Matta², Eduardo Arruda Teixeira Lanna¹, Juarez Lopes Donzele¹, Sirlene Souza Rodrigues², Rodrigo Fortes da Silva², Leonardo Luiz Calado² e Oswaldo Pinto Ribeiro Filho³

RESUMO

Objetivando-se determinar o efeito do nível de energia digestível da dieta no desenvolvimento testicular de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) foram utilizados 600 peixes com peso e comprimento médio inicial de $0,33 \pm 0,11$ g e $2,94 \pm 0,39$ cm, respectivamente. Foram realizados quatro tratamentos (2.600, 2.700, 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg de ração). Verificou-se que o nível de energia não influenciou o peso corporal médio final e comprimento total. Foi verificado efeito quadrático ($P < 0,02$) no peso da gônada aos 60 dias. Foi verificado efeito quadrático ($P < 0,02$) no índice gonadossomático aos 60 dias. Os peixes dos tratamentos com 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg apresentaram nítida formação de cistos de espermatogônias primárias e secundárias. Os animais dos grupos com 2.600 e 2.700 kcal de ED/kg apresentaram formação de cistos de espermatogônias primária, apenas.

Palavras-chave: desenvolvimento testicular, índice gonadossomático, energia, piaçu.

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa (UFV). Av P.H. Rolfs, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. *E-mail: rddnavarro@yahoo.com.br

² Departamento de Biologia Geral, UFV. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

³ Departamento de Biologia Animal, UFV. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Dietary digestible energy levels on the gonad development of Piaçu (*Leporinus macrocephalus*) in post larvae stage

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effect of energy levels on testicular development of the piaçu (*Leporinus macrocephalus*). Six hundred fishes, averaging initial weight and length of 0.33 ± 0.11 g and 2.94 ± 0.39 , respectively, were utilized. The experiment was carried out according to a completely randomized design, with 4 treatments (2600, 2700, 2800, and 2900 kcal DE/kg). Energy level did not significantly affect average final body weight and total length. Quadratic effect on gonads weight ($P < 0.02$) at 60 days was verified. Quadratic effect on the gonad-somatic index ($P < 0.02$) at 60 days was verified. The treatments with 2800 and 2900 kcal DE/kg showed the primary and secondary spermatogonia rounded by Sertoli cells in a typical cyst formation. The treatments with 2600 and 2700 kcal DE/kg showed development of primary spermatogonia cyst only.

Keywords: gonadal development, gonad-somatic index, energy, piaçu.

INTRODUÇÃO

O cultivo de peixes em sistemas intensivos vem sendo praticado por aqüicultores em função das demandas do mercado consumidor brasileiro, que tem exigido um produto de boa qualidade. Dentre as espécies nativas com possibilidades de serem aproveitadas nesse tipo de cultivo, o piaçu tem-se destacado em função do seu alto potencial reprodutivo e da sua adaptação ao cativeiro.

O piaçu, pertencente à família Anostomidae e ao gênero *Leporinus* sp é pouco conhecido do ponto de vista zootécnico. O *L. macrocephalus* apresenta maior porte dentro do gênero e tem sido o de maior importância econômica para pesca no Pantanal mato-grossense, onde é conhecido como “piavussu” (Garavello, 1979; Garavello e Bristski, 1988; Castagnolli, 1992; Carvalho *et al.*, 2000; Peruca *et al.*, 2000). Quanto aos aspectos reprodutivos existem poucos trabalhos para *L. macrocephalus*, podendo ser citado Amaral (1999), que determinou o ciclo reprodutivo do piaçu, evidenciando a importância do macho no desempenho reprodutivo da espécie, pois, pequeno número de animais é responsável pela fecundação de grande quantidade de

fêmeas. Por se tratar de espécie reofílica, sua reprodução em cativeiro precisa ser induzida por estimulação hormonal.

Os componentes essenciais na formação celular e os níveis nutricionais de proteína e energia são de máxima importância na composição da dieta para o pleno desenvolvimento e crescimento animal. A utilização de lipídios de boa qualidade, na ração da maioria das espécies de peixes, deve ser cuidadosamente dosada visto que os efeitos indesejáveis são decorrentes das excessivas perdas na taxa de crescimento e também de problemas nutricionais e até patológicos (Martino, 2003). Os óleos vegetais de maior destaque para pesquisa são os de soja, de canola e de linhaça sendo o primeiro, formado, predominantemente por ácido graxo de cadeia longa, o mais utilizado (Mascarenha, 2001).

A influência da dieta sobre o desempenho reprodutivo dos peixes permite a escolha de ingredientes em níveis mais adequados aos processos metabólicos do animal. Embora recentes estudos venham sendo conduzidos nessa linha, no sentido de melhorar o aproveitamento do potencial da piscicultura, poucos trabalhos relacionam nutrição e parâmetros reprodutivos (Luquet e Watanabe, 1986; Gunasekera *et al.*, 1995; Gunasekera e Lam, 1997; Al-Hafedh *et al.*, 1999; Fernández-Palacios *et al.*, 1997).

A relação entre as exigências nutricionais e o desenvolvimento testicular em espécies nativas, tanto em condições naturais quanto em condições de cativeiro, é de fundamental importância para o manejo adequado das populações apesar da pouca informação, especialmente em relação à interferência da energia digestível na reprodução de peixes nativos. O objetivo foi avaliar o efeito do nível de energia na dieta sobre o desenvolvimento testicular de piaçu (*Leporinus macrocephalus*) na fase pós-larval.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na estação de Hidrobiologia e Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, no período de 27/12/2002 a 27/02/2003.

Foram utilizadas 600 pós-larvas de *L. macrocephalus*, com peso e comprimento médios iniciais de 0,33 g e 2,94 cm, respectivamente. Os animais foram distribuídos em 4 tanques de concreto, com capacidade de 25.000 L cada, na densidade de 6 peixes/m³. Foram conduzidos quatro

tratamentos variando-se os níveis de energia digestível na ração (2.600, 2.700, 2.800 e 2.900 kcal ED/kg de ração), sendo cada peixe considerado a unidade experimental. A duração do experimento foi de 60 dias e, ao final desse período, foram coletados para análise histológica, 60 alevinos de piauçu sendo 15 animais de cada tratamento.

As dietas experimentais foram formuladas para serem isoprotéicas, com 28% de PB, para atingirem os níveis de energia digestível exigidos; variaram apenas óleo e inerte. As suas composições percentuais químicas encontram-se apresentadas na Quadro 1.

Quadro 1. Composição percentual e química das rações experimentais, elaboradas com diferentes níveis de energia.

Ingrediente ¹ (%)	Dietas			
	2.600	2.700	2.800	2.900
	----- kcal ED/kg -----			
Farelo de soja	47,6	47,6	47,6	47,6
Farelo de trigo	27,0	27,0	27,0	27,0
Milho	12,2	12,2	12,2	12,2
Feno de alfafa	4,0	4,0	4,0	4,0
Óleo de soja	0,2	1,3	2,4	3,5
Fosfato Bicálcio	1,97	1,97	1,97	1,97
Calcáreo calcítico	0,72	0,72	0,72	0,72
DL – metionina	0,48	0,48	0,48	0,48
Premix ³	0,60	0,60	0,60	0,60
Vitamina C	0,03	0,03	0,03	0,03
Sal	0,40	0,40	0,40	0,40
BHT (Antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02
Treonina	0,04	0,04	0,04	0,04
Inerte (areia)	4,73	3,68	2,56	1,44
Composição calculada				
Proteína bruta, %	28,2	28,2	28,2	28,2
Energia digestível, kcal/kg	2.606	2.700	2.800	2.900
Fibra bruta, %	6,52	6,52	6,52	6,52
Lisina total, % ²	1,56	1,56	1,56	1,56
Metionona + Cistina, % ²	0,87	0,87	0,87	0,87
Treonina, %	1,00	1,00	1,00	1,00
Triptofano, %	0,38	0,38	0,38	0,38
Cálcio, % ²	1,01	1,01	1,01	1,01
Fósforo total, % ²	0,93	0,93	0,93	0,93
Relação ED:PB	9,28	9,64	10,00	10,35

1- Baseados nas análises de laboratório LNA/UFV

2- Baseados nos valores propostos pelo NRC (1993) e por Rostagno (2000).

3- Suplemento Premix vitamínico (nutron) (5 kg/ton), com níveis de garantia por kg de produto: Vit. A 1.200.000 UI, Vit. D₃ 200.000 UI, Vit. E 12.000 mg, Vit K₃ 2.400 mg, Vit B₃ 4.800 mg, Vit B₂ 4.800 mg, Vit B₆ 4.000 mg, Vit. B₁₂ 4.800 mg, Ac. fólico 1.200 mg, Pantotenato Ca 12.000mg, Vit. C 48.000 mg, Biotina 48 mg, Cloreto de colina 108.000 mg, Niacina 24.000 mg e Premix mineral comercial (1 kg/ton), com níveis de garantia por kg do produto: Fe 50.000 mg, Cu 3.000 mg, Mn 20.000 mg.; Zn 3.000 mg, I 100 mg, Co 10 mg, Se 100 mg.

As dietas experimentais foram peletizadas e oferecidas de forma controlada em três refeições diárias (9:30, 13:30 e 17:30 horas). A oferta de ração foi de 5% do peso vivo, sendo ajustada a cada 15 dias. Foram realizadas despescas através de rede de malha de 3 cm entre nós, sendo capturados 15% dos animais. As biometrias foram realizadas utilizando-se um paquímetro e balança de precisão.

Durante o experimento, a água dos tanques foi renovada diariamente e a determinação da temperatura realizada às 9:00 e 17:00 horas. O pH, o oxigênio dissolvido (O₂D), a condutividade elétrica e a transparência da água foram verificados a cada 7 dias, às 9:00 horas, utilizando-se medidor portátil de pH, oxímetro, condutivímetro e disco de secchi.

Ao final do experimento todos os animais, após jejum de 24 horas, foram insensibilizados em água e gelo, pesados, medidos e abatidos. Após o abate, os mesmos foram eviscerados e, posteriormente, a carcaça, as vísceras e as gônadas foram pesadas em balança de precisão (0,001g). Em seguida, as gônadas foram processadas histologicamente.

As preparações histológicas, assim como as análises morfológicas, foram realizadas no laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV. Os testículos foram coletados e pesados após a retirada da gordura associada. Procedeu-se a fixação em líquido em Bouin e a posterior desidratação em série alcoólica crescente. Os testículos foram incluídos em glicolmetacrilato, seccionados na espessura de 3 µm com navalha de vidro em micrótomo rotativo, e corado com azul de toluidina 0,5 % + borato de sódio a 1%. As preparações foram montadas em Entellan e observadas em microscópio Olympus BX 4. Fotomicrografias foram realizadas em fotomicroscópio CX 31 Olympus, utilizando-se filme T-max-ASA 100 Kodak.

Foram registrados, qualitativamente, os estádios de desenvolvimento gonadal através de análise histológica e calculado o índice gonadossomático (IGS), que indica o estado de desenvolvimento gonadal do peixe, utilizando-se a fórmula:

$$\text{IGS} = \text{PG/PC} \times 100,$$

onde

PG = peso da gônada

PC = peso corporal

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Os efeitos dos níveis de energia foram analisados mediante o uso dos modelos de regressão linear, quadrática ou descontínuo “Linear Response Ploteon” (LRP), conforme o melhor ajustamento obtido para cada variável, com base na significância dos coeficientes de regressão pelo teste, no coeficiente de determinação, na soma de quadrado dos desvios e nos fenômenos em estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos da água dos tanques experimentais encontravam-se dentro da faixa ótima (Quadro 2) para peixes tropicais (Castagnolli, 1992; Boyd, 1982; Tavares, 1994; Kubitzka e Ono, 1997) e provavelmente não influenciaram no resultado do experimento.

Quadro 2. Temperaturas pela manhã e tarde, oxigênio dissolvido (O₂D), pH, condutividade elétrica (CE) e transparência da água (TA) dos tanques, no período da manhã

	Temperatura		O ₂ D	pH	CE	TA
	Manhã	Tarde				
	----- °C -----		mg/L		µs/L	cm
Janeiro I†	25,9	27,7	5,8	8,8	97,0	69,0
Janeiro II‡	25,9	30,0	7,0	7,0	96,0	58,0
Fevereiro I†	28,4	29,8	6,5	6,5	94,0	61,0
Fevereiro II‡	27,0	30,3	6,0	6,8	99,0	65,0
Média	26,8	29,5	6,25	7,2	96,5	63,2

† 1^o quinzena

‡ 2^o quinzena

Os testículos de *L. macrocephalus* são pares, alongados e individualizados em quase toda a sua extensão unindo-se apenas na extremidade caudal, para formar o ducto espermático comum. Localizam-se dorsalmente ao trato digestivo e ventrolateralmente à bexiga gasosa. Segundo Amaral (1999), a superfície externa do testículo imaturo é lisa, mas cheia de pequenos sulcos e reentrâncias, quando elas estão maduras. São ricamente vascularizados, sendo percorridos no sentido longitudinal, por um grande vaso sanguíneo, que se ramificam lateralmente em inúmeros pequenos vasos. Essa característica também foi observada no presente experimento, em animais mais jovens. Nos animais dos tratamentos 2.600 e 2.700 kcal de ED/kg, esses testículos eram finos e transparentes, caracterizando estágio de

desenvolvimento inicial. Nos tratamentos de 2.800 e 2.900 kcal eles se mostraram mais espessos e esbranquiçados, caracterizando estágio mais avançado.

Aos 60 dias, não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos, tanto para peso corporal quanto para o comprimento total (Quadro 3). Em experimento semelhante, Camargo (1995) encontrou maior peso final em tambaqui (*Colossoma macropomum*) para animais alimentados com 3.300 kcal de EM/kg.

Quadro 3. Peso médio final (PMF), peso das gônadas (PG), comprimento total (CT) e Índice Gonadosomático (IGS) de alevinos de piauçu alimentados com dietas com níveis crescentes de energia digestível na ração

	Dietas				Nível P	CV†
	2.600	2.700	2.800	2.900		
	----- kcal ED/kg -----					%
PMF, g	14,8	11,5	11,3	11,6	ns	51,55
CT, cm	9,9	9,2	9,4	9,5	ns	14,99
PG, g‡	0,00038	0,00020	0,00020	0,00057	0,02	55,23
IGS, %‡	0,00236	0,00184	0,00187	0,00494	0,003	32,29

† Coeficiente de variação

‡ Efeito quadrático. PG = 0,100994 - 0,0000739042X + 0,0000000135417X² R² = 0,98

IGS = 0,656557 - 0,000484065X + 0,0000000894218X² R² = 0,95.

Foi verificado efeito quadrático (P<0,02) no peso da gônada aos 60 dias. Com base nesse resultado pode-se inferir que a relação energia:proteína de 10,35, dessa ração estaria mais ajustada as exigências dos animais para peso de gônada. O peso testicular é diretamente relacionado com a produção espermática e assim sendo quanto maior o testículo, maior produção de espermatozóides. Porém a quantidade de espermatozóides produzidos é sempre maior que o número necessário para fecundação (França e Russell, 1998).

Os resultados de diferentes níveis de energia da dieta sobre o peso corporal final, comprimento total, peso da gônada e índice gonadosomático encontram-se na Quadro 3. Foi verificado efeito quadrático no IGS (P<0,02) no peso da gônada aos 60 dias. Frenkel e Goren (1997), trabalhando com *Aphanius dispar*, com diferentes níveis de alimentação, observaram redução no IGS quando diminuiu a taxa de alimentação. Gunasekera e Lam (1997), trabalhando com tilápia do Nilo e verificando a recuperação desse animal

após a desova, obtiveram IGS maior fornecendo 35% de PB, indicando também desenvolvimento gonadal mais avançado que os outros tratamentos.

Os efeitos dos níveis de energia da dieta sobre a morfologia macroscópica, microscópica e o estágio de desenvolvimento testicular em função dos diferentes tratamentos são apresentados na Quadro 4.

Quadro 4. Característica morfológica macroscópica e microscópica testicular de piaçu alimentados com dietas com níveis crescentes de energia digestível

Característica	Dietas			
	2.600	2.700	2.800	2.900
	----- kcal ED/kg -----			
Células de Leydig	+	+	+	+
Célula de Sertoli	+	+	+	+
Cisto de EG1	+	+	+	+
Cisto de EG2	-	-	+	+
Testículo fino e transparente	+	+	-	-
Testículo espesso e esbranquiçado	-	-	+	+

+ presente. - ausente

Aos 60 dias, os animais dos tratamentos com 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg exibiram desenvolvimento gonadal mais avançado em relação aos outros grupos apresentando mais espermatogônias por campo. Também foi observada nítida formação de cistos de espermatogônia primária (EG1) e espermatogônias secundárias (EG2) circundadas por maior quantidade de células de Sertoli (Quadro 4). Observaram-se também agrupamentos de células intersticiais juntamente com vasos sanguíneos. Animais dos tratamentos com 2.600 e 2.700 kcal de ED/kg apresentaram gônadas menos desenvolvidas com, a população de espermatogônias reduzida em relação aos grupos de maiores níveis de energia digestível. Grupos de células intersticiais em torno de vasos sanguíneos também foram observados nesses tratamentos (Quadro 4). Resultados similares foram encontrados por Shearer e Swanson (2000) que, utilizando nível de 22% de lipídio, obtiveram 45% dos machos de salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*) maduros sexualmente. Além disso, esses autores relataram que os machos maduros tiveram menor percentagem de lipídio na carcaça, e que esse resultado é comumente esperado, visto que, na época de reprodução, ocorre mobilização de energia para o crescimento e amadurecimento das gônadas.

Al-Hafedh *et al.* (1999), trabalhando com tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) com níveis de 25, 30, 35, 40 e 45% de PB, observaram que machos alimentados com uma dieta de 45 % de PB, no período de 14 semanas, apresentaram desenvolvimento gonadal mais avançado em relação a outros tratamentos. Esses autores, trabalhando também com tilápia fêmeas, observaram que apenas com 18 semanas foi detectado um avanço na maturação gonadal, usando uma dieta com 45% de PB. Gunasekera e Lam (1997), trabalhando também com tilápia nilótica (*O. niloticus*), verificaram que utilizando 35% de PB na dieta houve recuperação gonadal mais rápida, logo após a desova, em relação ao desenvolvimento dos estádios reprodutivos.

No presente estudo, os animais alimentados com dietas contendo 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg, apresentaram espermatogônias secundárias com 8 semanas. Com base nesses resultados, pode-se inferir que esses níveis de energia na dieta estariam mais ajustados às exigências dos animais, proporcionando aceleração do processo espermatogênico.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que o nível de energia digestível de 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg refletiu maior desenvolvimento testicular. A exigência energética para piaçu, de 0,30 a 120g, é de 2.800 e 2.900 kcal de ED/kg e a relação energia:proteína foi de 10 e 10:35.

BIBLIOGRAFIA

- Al-Hafedh Y.S., A.Q. Siddiqui y M.Y. Al-Saiady. 1999. Effects of dietary protein levels on gonads maturation, size and age at first maturity, fecundity and growth of Nile Tilapia. *Aquaculture Int.*, 7:319-332.
- Amaral A.A. 1999. Ciclo reprodutivo anual em macho de *Leporinus macrocephalus* (Pisces, Characiformes, Anostomidae). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – UNESP, 64p.
- Body C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture, Development in Aquaculture and Fisheries Science. Elsevier, New York. 730 p.

- Castagnolli N. 1992. Piscicultura de água doce. Jaboticabal: Funep. 189p.
- Camargo A.C.S. 1995. Níveis de energia metabolizável para tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuier, 1818) dos 30 aos 180 gramas de peso vivo. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. 55p.
- Carvalho S., A. Tomazzoni, A. Costa, C. Villamil y S. Hartz. 2000. Dieta das espécies de peixes de maior importância comercial no lago Guaíra, RS. Anais XXIII Congresso Brasileiro de Zoologia. Cuiabá, MT. p. 377.
- Fernández-Palacios H., M. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi y D. Montero. 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 148:213-246.
- França L.R. y L.G. Russell. 198. The testis of domestic animals. In Regadera J. y A. Martinez-Garcia (Eds.) Male Reproduction. A Multidisciplinary Overview. Churchill Livingstone, Madrid, España. pp.197-219.
- Frenkel V. y M. Goren. 1997. Some environmental factors affecting the reproduction of *Aphanius dispar* (Ruppell, 1828), *Hydrobiol.*, 347: 197-207.
- Garavello J.C. 1979. Revisão taxonômica do gênero *Leporinus* Spix, 1829 (Ostariophysi, Anostomidae). Tese Doutorado em Zoologia. Universidade de São de Paulo. São Carlos, SP. Brasil. 455p.
- Garavello J.C. y H.A. Britski. 1988. *Leporinus macrocephalus* Spn. da bacia do rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). *Naturalia*, 13: 67-74.
- Gunasekera R.M., K.F. Shima y T.J. Lam. 1995. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 134(1-2): 169-183.
- Gunasekera R.M. y T.J. Lam. 1997. Influence of protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.), *Aquaculture*, 149: 57-69.

- Kubitza F.E. y E.A. Ono.1997. Curso de qualidade da água na produção de peixes. Apostila, Piracicaba, São Paulo. 42p.
- Luquet P. y T. Watanabe. 1986. Interaction “nutrition-reproduction” in fish, *Fish Physiol. Biochem.*, 2: 121-129.
- Mascarenhas A.G. 2001. Fontes de lipídios e níveis de energia digestível para suínos machos inteiros a partir dos 60 kg. Tese Doutorado Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 70p.
- Martino R.C. 2003. Exigência e cuidados da adição de lipídios em rações para peixes e a sua importância para o homem. *Revista Panorama da Aqüicultura*, 58-60.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. NRC, Washington, DC. 114p.
- Rostagno H.S. 2000. *Composição de alimentos e exigência nutricional de aves e suínos (Quadro Brasileiro)*. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 141p.
- SAEG. 2003. *Manual de utilização do programa SAEG*, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 59 pg.
- Tavares L.H.S. 1994. *Limnologia aplicada à aqüicultura*. Boletim Técnico do Centro de Aqüicultura da Unesp, Nº 1. 72p.