

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

BRUNA MACHIAVELLI

Morfometria dos tecidos hepático e intestinal e crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com nucleotídeos

Toledo

2018

BRUNA MACHIAVELLI

Morfometria dos tecidos hepático e intestinal e crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com nucleotídeos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli
Co-orientador: Prof. Dra. Elenice Souza dos Reis Goes

Toledo

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Machiavelli, Bruna

Morfometria dos tecidos hepático e intestinal e crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com nucleotídeos / Bruna Machiavelli; orientador(a), Robie Allan Bombardelli; coorientador(a), Elenice Souza dos Reis Goes, 2018.

39 f.


Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2018.

1. Aditivo. 2. Hepatócito. 3. Histologia. I. Bombardelli, Robie Allan. II. Goes, Elenice Souza dos Reis. III. Título.

BRUNA MACHIAVELLI

"Morfometria dos tecidos hepático e intestinal e crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com nucleotídeos"

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, área de concentração Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, linha de pesquisa Aquicultura, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a) – Robie Allan Bombardelli

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Toledo (UNIOESTE)


Maria do Carmo Gominho Rosa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Toledo (UNIOESTE)


Vanessa Yuri de Lima

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Toledo, 02 de agosto de 2018.

DEDICATÓRIA

À
minha avó Hedy (*in
memoriam*), por ser minha luz e
proteção.

Aos
meus pais Fabiana e Lair,
pelo amor, paciência e apoio em
todos os momentos.

Ao
meu irmão Geandré,
pelo exemplo que sempre foi
para mim e vai sempre ser.

À
minha afilhada Lívia,
minha alegria em dias difíceis.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* Toledo, à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* Marechal Cândido Rondon e à Universidade Federal do Paraná, setor Palotina, por disponibilizar equipamentos e laboratórios para realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa por meio do Processo CNPq nº 311658/2016-4 e Processo CNPq nº 429239/2016-5.

À NutriQuest® TechnoFeed™ pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa por meio da doação do Ascogen®.

À Piscicultura Sgarbi pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa por meio da doação dos reprodutores e matrizes.

À todos os professores, que colaboram para a construção de profissionais e disponibilizam seus conhecimentos.

À equipe do Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos Cultiváveis (Latraac), pela ajuda e apoio no desenvolvimento do trabalho.

Ao meu orientador professor Dr. Robie Allan Bombardelli, pela orientação, oportunidades e ensinamentos.

À minha co-orientadora professora Dra. Elenice Souza dos Reis Goes, pelo incentivo, palavras carinhosas e ajuda.

Aos meus amigos Samara Marcon, Juliano Kelvin Henriques, Éder Oliveira e Giovano Neumann, pelo apoio, companheirismo e amizade.

À todas as pessoas que de alguma forma me deram força e influenciaram no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Morfometria dos tecidos hepático e intestinal e crescimento de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com nucleotídeos

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, a morfometria dos tecidos intestinal e hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo, provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. Ao longo de 30 dias, 2.000 larvas ($0,013 \pm 0,00$ g) foram alojadas em tanques de 70L, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os reprodutores e as matrizes foram alimentados com rações contendo 28% de proteína digestível, 2.800 kcal de energia digestível e, suplementadas com 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00% de nucleotídeos. As larvas provenientes destes animais foram alimentadas com ração comercial, contendo 50% de proteína bruta e 60mg de 17α -metiltestosterona/kg. Ao término do período experimental, os juvenis de cada unidade experimental foram anestesiados, pesados e medidos para avaliação dos parâmetros zootécnicos. Ainda, dois juvenis de cada unidade experimental foram eutanasiados, dissecados e os fígados e intestinos fixados para posterior processamento histológico. Os juvenis provenientes de matrizes e reprodutores alimentados com rações contendo 0,75% de nucleotídeos apresentaram maior comprimento total ($p=0,07$; $3,35 \pm 0,09$ cm). Os demais parâmetros de crescimento não foram alterados pelas rações. A suplementação de nucleotídeos nas rações também promoveu o aumento dos enterócitos ($p=0,00$) e as rações contendo 1,00% reduziram ($p=0,04$). A altura das vilosidades, a altura das microvilosidades e a morfometria dos hepatócitos não foram influenciadas pelas rações. Conclui-se que a suplementação dietética de nucleotídeos purificados para reprodutores e matrizes de tilápia-do-Nilo interferem no crescimento das proles e morfometria do tecido intestinal.

Palavras-chave: aditivo; hepatócitos; histologia; intestino; *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

Morphometry of the hepatic and intestinal tissues and growth of juveniles of Nile tilapia originated from broodstock fed with nucleotides

The objective of this study is to evaluate the morphometry of the intestinal and hepatic tissues and the growth of juveniles of Nile tilapia, originated from broodstock fed with purified nucleotides. During 30 days, 2.000 larvae ($0,013\pm 0,00g$) were housed in 70L tank, distributed in a completely randomized structure composed by five treatments and four replicates. The broodstock were fed with diets containing 28% of digestible protein, 2.800kcal of digestible energy and supplemented with 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 and 1,00% of nucleotides. The larvae originated from these animals were fed with commercial feed containing 50% crude protein and 60mg of 17α -methyltestosterone/kg. At the end of the experimental period, from each experimental unit the juveniles were anesthetized, weighed and measured to evaluate the zootechnical parameters. Still, from each experimental unit, two juveniles were euthanized, dissected and livers and intestines were fixed for later histological processing. The juveniles originated from broodstock fed with 0,75% of nucleotides diets presented higher total length ($p=0,07$; $3,35\pm 0,09cm$). Other growth parameters were not altered by the feeding. The feed supplementation with nucleotides also promoted an increase in the enterocytes ($p=0,00$), and feed containing 1,00% reduced ($p=0,04$). The height of the villousness, the height of the microvillousness and the morphometry of the hepatocytes were not influenced by the feed. It was concluded that dietary supplementation with purified nucleotides for Nile tilapia broodstock interferes in the growth and morphometry of the offspring intestinal tissue.

Keywords: additive; hepatocytes; histology; intestine; *Oreochromis niloticus*.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Imagem obtida para análise histológica do tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados..... | 28 |
| Figura 2. Imagem obtida para análise histológica do tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados..... | 29 |
| Figura 3. Tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados... .. | 31 |
| Figura 4. Tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados.. .. | 33 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e de nutrientes constituintes nas rações experimentais, com diferentes níveis de suplementação de nucleotídeos purificados, utilizados na alimentação de reprodutores e matrizes de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)..... | 26 |
| Tabela 2. Parâmetros de crescimento, sobrevivência e proporção sexual de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. | 30 |
| Tabela 3. Morfometria do tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados... .. | 30 |
| Tabela 4. Morfometria do tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. | 32 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|----|
| 1 | Revisão de literatura | 12 |
| 1.1 | A espécie estudada..... | 12 |
| 1.2 | Nutrição de reprodutores e matrizes de peixes | 13 |
| 1.3 | Nucleotídeos | 15 |
| 1.4 | Nucleotídeos na dieta de peixes..... | 16 |
| | Referências | 17 |
| 2 | Introdução | 24 |
| 3 | Material e Métodos | 25 |
| 3.1 | Análises dos Dados | 29 |
| 4 | Resultados | 29 |
| 4.1 | Parâmetros de desempenho zootécnico | 29 |
| 4.2 | Morfometria do tecido intestinal | 30 |
| 4.3 | Morfometria do tecido hepático..... | 31 |
| 5 | Discussão | 33 |
| 6 | Conclusão | 35 |
| | Referências | 35 |

1 Revisão de literatura

1.1 A espécie estudada

A tilápia é o nome comum aplicado a espécies de peixes do gênero *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia* (Watanabe et al., 2002). Muitas espécies que compõem o gênero *Oreochromis* e *Tilapia* apresentam crescente aumento no comércio mundial, principalmente pela grande produção na China e em outros países em desenvolvimento, como o Brasil (Hempel, 2002).

A espécie *Oreochromis niloticus* possui características ideais para o cultivo, devido ao rápido crescimento e a qualidade de sua carne (Fülber, 2007). Além disso, é tolerante às condições de baixa qualidade de água (Popma e Phelps, 1998) e apresenta baixo custo de produção (Lahav e Ra'nam, 1997). Por sua capacidade de adaptar-se a diversas condições de cultivo, é amplamente distribuída por todo o mundo (Shiau et al., 2015).

A espécie *Oreochromis niloticus* foi introduzida no Brasil em 1971 pelo Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) e disseminada através das companhias hidrelétricas para povoamento de seus reservatórios e de produtores rurais (Kubitza, 2000; Zaniboni Filho, 2003). A partir disso, na década de 90, a tilapicultura brasileira teve seu desenvolvimento através do sucesso da tilápia nos mercados nacional e internacional (Tomazelli Júnior e Philippi, 2006), sendo cultivada para finalidade comercial em vários estados brasileiros (Boscardin, 2008). Já em 1995, o cultivo se intensificou, impulsionado pela aceitação da tilápia nos pesque-pagues das regiões Sul e Sudeste do Brasil (Kubitza e Campos, 2005).

Atualmente, a produção da tilápia é muito importante para suprir a demanda e o consumo mundial de pescado, além de responsável pelo aumento da produção aquícola previsto para os próximos anos (FAO, 2016). Sua produção vem crescendo há muito tempo no Brasil. Diante disso, vale salientar, que no ano de 2015, a produção de tilápia cresceu 9,7% em relação ao ano anterior, chegando a 219.000 toneladas de janeiro a dezembro, sendo a espécie mais produzida no país (IBGE, 2015).

A intensificação dos sistemas de cultivo e o desenvolvimento da atividade aquícola fizeram com que o setor de produção investisse em melhorar as características de desempenho, adaptação ao sistema de cultivo e que atenda às exigências do mercado consumidor (Wagner, 2002). Consequentemente, foram realizadas pesquisas de melhoramento genético (Penman e McAndrew, 2000). Desta forma, nas Filipinas, surgiu o

projeto denominado GIFT, sigla para a denominação Genetically Improved Farmed Tilapia, resultado de um dos mais importantes programas de melhoramento genético a partir da espécie *O. niloticus*, realizado no período de 1988 a 1997 pelo International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM), atual World Fish Center (Khaw et al., 2008).

A variedade GIFT se desenvolveu de um rigoroso processo de seleção genética (Ponzoni et al., 2005), resultando em excelente desempenho produtivo e rusticidade ao manejo reprodutivo, em virtude a elevada resistência às doenças (Khaw et al., 2008). O aumento da demanda por larvas e juvenis dessa espécie no Brasil tem direcionado a busca de melhores práticas de manejo que aumente a produtividade e forneça animais de qualidade (Wild, 2013).

No Brasil, a GIFT foi introduzida no ano de 2005 por meio da parceria do centro de Aquicultura UEM/CODAPAR/Paraná e a Secretaria de Aquicultura e Pesca (SEAP-PR) com a World Fish Center, com o objetivo de continuar o programa de melhoramento genético dessas famílias nas condições de cultivo brasileiras (Fülber, 2007). Além do melhoramento genético, a busca por aumento da produção exige dos profissionais estudos sobre modernas técnicas de cultivo durante as fases de crescimento e engorda (Carvalho Filho, 2005).

1.2 Nutrição de reprodutores e matrizes de peixes

O manejo nutricional de reprodutores e matrizes de peixes é um tema abordado desde a década de 80 (Bombardelli, 2007), porém, muito ainda se tem por fazer para que este processo seja compreendido completamente, especialmente sobre o efeito que a dieta exerce sobre o desempenho reprodutivo (El-Gamal et al., 2007) ou sobre a qualidade da prole (Izquierdo et al., 2001).

Pesquisadores tem se dedicado a buscar informações necessárias para resolver essas questões nutricionais para peixes. Isso estimula estudos de novos componentes importantes da dieta relacionados ao desempenho reprodutivo, já que a nutrição de reprodutores e matrizes é pré-requisito básico para o sucesso nas fases seguintes de cultivo (Bhujel et al., 2001).

Para atender a crescente demanda da piscicultura no Brasil e no mundo, torna-se cada vez mais necessária a produção de juvenis e o aprimoramento da tecnologia de produção e desenvolvimento reprodutivo (Andrade e Yasui, 2003). Nesse sentido, é importante destacar a nutrição de reprodutores e matrizes, visto que as condições nutricionais especialmente das fêmeas interferem na composição dos ovos e influenciam diretamente no desenvolvimento larval (Izquierdo et al., 2001).

Desse modo, a nutrição e o manejo de reprodutores e matrizes são importantes para o bom desempenho da produção (Bhujel et al., 2007), uma vez que, os nutrientes mobilizados pelas fêmeas vão ser disponibilizados para a composição dos ovos (Izquierdo et al., 2001) e refletir sobre a qualidade das proles (Bombardelli et al., 2009). Além disso, a dieta influencia a qualidade dos gametas masculinos (Vassalo-Agius et al., 2001), colaborando assim na fertilização e no início do processo de desenvolvimento embrionário (Coward et al., 2002).

Entre os principais problemas observados durante o período inicial de vida das larvas, estão aqueles relacionados diretamente pela dieta das matrizes, visto que o estado nutricional da fêmea pode influenciar o desenvolvimento gonadal e a qualidade e quantidade de ovos e larvas (Pereira et al., 2009), sendo necessário para o desenvolvimento embrionário normal de peixes que todos os componentes nutricionais estejam presentes dentro do ovo (Nascimento, 2010). Visto isso, são fundamentais novas técnicas de manejo e nutrição que melhorem parâmetros como frequência de desova, quantidade de ovos, eclodibilidade e desempenho zootécnico das proles (Pereira et al., 2009).

A relação da dieta e desempenho reprodutivo dos peixes viabiliza a escolha de ingredientes em níveis mais adequados aos processos metabólicos do animal (Navarro et al., 2010). A concentração de vitaminas, minerais e a biodisponibilidade dos nutrientes são exemplos de parâmetros que interferem no seu desenvolvimento (Navarro et al., 2009). Por isso, desenvolver uma dieta adequada às necessidades básicas dos animais, fornecendo elementos importantes para o desempenho reprodutivo, de forma eficiente e saudável é de grande importância.

Os primeiros estudos sobre a influência da nutrição no desempenho reprodutivo de peixes iniciaram no Japão, utilizando a espécie *Pagrus auratus*, os quais demonstraram que a formulação de dietas adequadas, durante o período reprodutivo, tem grande efeito na qualidade dos ovos e larvas (Watanabe et al., 1984),

Estudos indicam a necessidade de utilizar nutrientes e aditivos nutricionais que visam melhorar o desempenho reprodutivo de tilápia-do-Nilo (Bombardelli et al., 2009; Pereira et al., 2009), pois a elaboração de uma dieta adequada nutricionalmente será responsável por determinar o crescimento e desenvolvimento gonadal das matrizes, garantido assim o sucesso reprodutivo (Parra et al., 2010).

Embora estes estudos sejam conduzidos para melhorar o potencial da piscicultura, ainda são restritos os estudos com exigências nutricionais de reprodutores e matrizes de peixes em razão da complexidade e tempo de avaliação dos experimentos (Bombardelli, 2007). Associados a estes fatores, a necessidade de estrutura física para manter grandes

estoques de animais adultos devidamente identificados, acarretam em altos custos e dificuldades na realização dos experimentos (Izquierdo et al., 2001). Outro fator determinante é o estresse envolvido no manejo. De acordo com Schreck et al. (2001), matrizes de várias espécies de peixes, quando submetidas a fatores estressantes e, associado à deficiência nutricional, acabam produzindo ovos com baixa eclosão e prole menos resistentes e com menor capacidade de sobrevivência.

Nesse sentido, para atender a elevada demanda da piscicultura, é de fundamental importância melhorar os índices reprodutivos e, com isso, aumentar a produção e fornecimento de larvas e juvenis em quantidades suficientes e de boa qualidade (Navarro et al., 2009).

1.3 Nucleotídeos

Os nucleotídeos são compostos biológicos de baixo peso molecular que desempenham diversas funções fisiológicas e bioquímicas essenciais (Carver e Walker, 1995; Zhao et al., 2015) e são compostos por uma base de purina ou pirimidina, uma pentose e um ou mais grupos de fosfato (Nelson e Cox, 2014).

Os nucleotídeos são os blocos de construção de ácidos nucleicos, DNA e RNA e também fornecem energia metabólica (Yin et al., 2014). Além disso, podem servir como componentes de coenzima, moléculas reguladoras, participar na síntese de proteínas e capacidade de apresentar uma resposta imunitária (Cheng et al., 2011; Zhao et al., 2015).

Os alimentos de origem animal e vegetal possuem em sua composição nucleotídeos na forma de nucleotídeos livres ou ácidos nucleicos. Há uma variedade de suplementos de nucleotídeos disponíveis no mercado atualmente, sendo estes derivados da levedura como manonucleotídeos ou oligonucleotídeos (Gatlin e Li, 2007).

O animal pode obter os nucleotídeos pela via *salvamento* e via *de novo* ou através da dieta (Low et al., 2003). Os nucleotídeos dietéticos são caracterizados como não essenciais, mas esta classificação vem sendo modificada por pesquisas recentes, sendo titulados como semi essenciais, com a justificativa da maior demanda desse composto em períodos de elevada taxa de crescimento (Xu et al., 2015), estresse (Welker et al., 2011), ou em animais comprometidos imunologicamente (Peng et al., 2013).

Há algumas razões hipotéticas que estão associadas com o efeito benéfico de nucleotídeos, como a capacidade de síntese de nucleotídeos limitada em certos tecidos, como na mucosa intestinal, células hematopoiéticas, linfócitos e cérebro (Li e Gatlin, 2006; Welker

et al., 2011). Baseado nisso, uma variedade de estudos têm mostrado que a suplementação dietética pode melhorar a função imunitária, a saúde intestinal, o crescimento (Welker et al., 2011) e a sobrevivência dos animais (Burrells et al., 2001a; 2001b). No entanto, o ideal nível de suplementação dietética de nucleotídeos precisa ser calculado com precisão, pois a alta concentração na dieta destes compostos pode comprometer o crescimento e diminuir a incorporação de proteína (Oliva-Teles et al., 2006; Peres e Oliva-Teles, 2003).

Atualmente, existem muitas lacunas na pesquisa sobre os efeitos da suplementação de nucleotídeos em dietas de peixes, principalmente em relação ao efeito em reprodutores e matrizes sobre a prole. Há então a necessidade de avaliar a suplementação de nucleotídeos na dieta de reprodutores e matrizes de tilápia-do-Nilo e o desenvolvimento da prole no período inicial de vida.

1.4 Nucleotídeos na dieta de peixes

Os nucleotídeos são importantes na dieta para tornar disponíveis bases e nucleosídeos que podem ser utilizados imediatamente na síntese de nucleotídeos, pela via *salvamento*. Essa via é muito importante para os tecidos e órgãos pela qual a síntese de nucleotídeos é limitada, mas que apresentam uma rápida divisão mitótica. Consequentemente, há uma grande demanda de nucleotídeos para atender a rápida divisão mitótica de tecidos e órgãos, como no cérebro, eritrócitos, medula óssea, mucosa intestinal e linfócitos (Rossi et al., 2007; Uauy et al., 1994). Uauy (1994) afirma que células de rápido crescimento, como enterócitos, possuem capacidade limitada para síntese de purinas e pirimidinas pela síntese *de novo*, portanto é necessária a suplementação exógena para manter o *pool* de nucleotídeos.

Cada vez mais são apontadas evidências que os nucleotídeos utilizados na dieta são capazes de alterar a eficácia de resposta imune e recuperação de órgãos em que houve um desequilíbrio metabólico ou um processo inflamatório (Ringø et al., 2012). Várias pesquisas publicadas na última década sugere que a deficiência de nucleotídeos na dieta pode prejudicar o fígado, coração, intestino e funções imunes (Grimble e Westwood, 2000). Além disso, foram relatados em animais endotérmicos que a suplementação de nucleotídeos na dieta tem efeito sobre os linfócitos, ativação da fagocitose, respostas de imunoglobulinas, microbiota intestinal, bem como a expressão gênica de certas citocinas (Gil, 2002; Singhal et al., 2008).

No início da década de 1970, a atenção para avaliar a suplementação de nucleotídeos na dieta para animais aquáticos, concentrou-se principalmente nos possíveis efeitos quimio-atraentes destes compostos (Mackie, 1973; Mackie e Adron, 1978), no entanto as

investigações pioneiras por Burrells et al. (2001a; 2001b) resultaram em concentrar os estudos na suplementação de nucleotídeos para peixes para aumentar a resistência dos salmonídeos a infecções virais, bacterianas e parasitárias, bem como a melhor eficácia da vacinação e osmoregulação. Ainda, são encontrados estudos sobre a suplementação de nucleotídeos na dieta de peixes que demonstram melhores resultados para o crescimento em estágios iniciais de desenvolvimento (Li et al., 2007), modificação da estrutura intestinal (Men et al., 2014), aumento a resistência ao estresse (Welker et al., 2011), bem como modular respostas imunes (Barros et al., 2015).

Nesse contexto, pesquisas mostram que a dieta com suplementação de nucleotídeos modificam o tipo e o crescimento da microbiota intestinal, em que os nucleotídeos dietéticos podem estimular o crescimento de bifidobactérias, porém não pode ser determinado se a menor porcentagem de enterobactérias é devido a um efeito direto de nucleotídeos ou é um resultado de competição de crescimento com as bifidobacterias (Uauy et al., 1994). Apesar dessas inconsistências, a suplementação dietética de nucleotídeo mostrou influências benéficas em várias espécies de peixes.

Também é importante destacar que a suplementação com nucleotídeos na dieta de peixes pode ser benéfica para o desempenho reprodutivo, uma vez que a oogênese é um processo de intensa divisão celular, exigindo alta formação de ácido nucleico e alto requerimento de nucleotídeos. Estudo feito com *Melanogrammus aeglefinus* L., melhoraram a fecundidade, qualidade do ovo e a morfometria quando as dietas de reprodutores e matrizes foram suplementadas com nucleotídeos (González-Vecino et al., 2004).

Os estudos sobre nutrição de peixes utilizando nucleotídeos apresentam muitas questões fundamentais que ainda permanecem sem resposta (Barros et al., 2015), porém muitos resultados apoiam a afirmação de que os nucleotídeos são nutrientes semi essenciais para peixes (Xu et al., 2015) e uma maior atenção deve ser dada a dieta com suplementação de nucleotídeos para aplicação na aquicultura.

Referências

- Andrade, D.R., Yasui, G.S., 2003. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** 27(2), 166-172.
- Barros, M.M., Guimarães, I.G., Pezzato, L.E., Orsi, R.O., Junior, A.C.F., Teixeira., C.P., Fleuri, L.F., Padovani, C.R., 2015. The effects of dietary nucleotide mixture on growth

- performance, haematological and immunological parameters of Nile tilapia. **Aquac. Res.** 46, 987-993.
- Bhujel, R.C., Turner, W.A., Yakupitiyage, A., Little, D.C., 2001. Impacts of environmental manipulation on the reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **J. Aqua. trop.** Calcutta. 16(3), 197-209.
- Bhujel, R.C., Little, D.C., Hossain, A., 2007. Reproductive performance and the growth of pre-stunted and normal Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish at varying feeding rates. **Aquaculture.** 273, 71-79.
- Bombardelli, R.A., 2007. Energia digestível para reprodutores de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* L. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M.R.M., Sanches, E.A., Piana, P.A., 2009. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. **R. Bras. Zootec.** 38(8), 1391-1399.
- Boscardin, N.R., 2008. A produção aquícola brasileira. In: Ostrensky, A., Borghetti, J.R., Soto, D. *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer.* Brasília. 276.
- Burrells, C., Williams, P.D., Forno, P.F., 2001a. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonoids. **Aquaculture.** 199(1-2), 159-169.
- Burrells, C., Williams, P.D., Southgate, P.J., Wadsworth, S.L., 2001b. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture.** 199(1-2), 171-184.
- Carvalho Filho, J., 2005. Tilápia se prepara para conquistar novos mercados. **Panorama da Aquicultura.** 15(89).
- Carver, J.D., Walker, W.A., 1995. The role of nucleotides in human nutrition. **J. Nutr. Biochem.** 6, 58-72.
- Coward, K., Bromage, N.R., Hibbitt, O., Parrington, J., 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Rev. Fish Biol. Fish.** 12, 33-58.
- Cheng, Z., Buentello, A., Gatlin III, D.M., 2011. Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum *Sciaenops ocellatus*. **Fish Shellfish Immunol.** 30(1), 143-147.

- El-Gamal, A.H.E., El-Greisy, Z.A., El-Ebiary, E.H., 2007. Synergistic effects of vitamins C and E and selenium on the reproductive performance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **J. Appl. Sci. Res.** 3(7), 564-573.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma.
- Fülber, F.M., 2007. Desempenho de três linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes fases, densidades e níveis de proteína. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção Animal)** - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Gatlin III, D.M., Li, P., 2007. Nucleotides. In: Nakagawa, H., Sato, M., Gatlin III, D.M. (Ed.). **Dietary supplements for the health and quality of cultured fish**. UK: Cromwell Press. 193-209.
- Gil, A., 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. **Eur. J. Clin. Nutr.** 56(3), S1-S4.
- González-Vecino, J.L., Cutis, C.J., Batty, R.S., Mazorra de Quero, C., Greenhaff, P.L., Wadsworth, S., 2004. Short e long term effects of a nucleotide enriched broodstock diet on the reproductive performance of haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). **Abstract Book of 11th International Symposium on nutrition and Feeding in Fish**. Phuket. Thailand, 99.
- Grimble, G.K., Westwood, O.M.R., 2000. Nucleotides In: German, J.B., Keen, C.L. (Eds.), **Nutrition and Immunology: Principles and Practice**. **Humana Press Inc**. Totowa, NJ, USA, 135-144.
- Hempel, E., 2002. Tilapia, the new whitefish. *Seafood international*, **AGRA** Europe, London. 17(10),16-20.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Disponível em: <www.ibge.gov.br>.
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**. 197(1-4), 25-42.
- Khaw, H.L., Ponzoni, R.W., Dnting, M.J.C., 2008. Estimation of genetic change in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by comparing contemporary progeny produced by males born in 1991 or in 2003. **Aquaculture**. 275(1-4), 64-69.
- Kubitza, F., 2000. **Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial**. 1 ed. Jundiaí: F, 289.
- Kubitza, F., Campos, J.L., 2005. Desafios para a consolidação da tilapicultura no Brasil. **Panorama da Aqüicultura**. 15(91), 14-22.

- Lahav, E., Ra'nan, Z., 1997. Salinity tolerance of genetically produced tilapia (*Oreochromis*) hybrids. **Isr. J. Aquacult.** 49(3), 160-165.
- Li, P., Gatlin III, D. M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. **Aquaculture.** 251(2-4), 141-152.
- Li, P., Gatlin III, D.M., Neill, W.H., 2007. Dietary supplementation of a purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. **J. World Aquacult. Soc.** 38, 281-286.
- Low, C., Wadsworth, S., Burrells, C., Secombes, C.J., 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. **Aquaculture.** 221(1-4), 23-40.
- Mackie, A.M., 1973. The chemical basis of food detection in the lobster *Homarus gammarus*. **Mar. Biol.** 21(2), 103-108.
- Mackie, A.M., Adron, J.W., 1978. Identification of inosine and inosine 5'-monophosphate as the gustatory feeding stimulants for the turbot, *Scophthalmus maximus*. **Comp. Biochem. Physiol.** 60(1), 79-83.
- Men, K., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., Zhou, H., 2014. Effects of dietary corn gluten meal on growth, digestion and protein metabolism in relation to IGF-I gene expression of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture.** 428-429, 303-309.
- Nascimento, T.R.S., 2010. Vitamina E em dietas para reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Dissertação (Mestrado em Aquicultura)** - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Navarro, R.D., Filho, O.P.R., Ferreira, W.M., Pereira, F.K.S., 2009. A importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** 33(1), 20-25.
- Navarro, R.D., Maldonado, I.R.S.C., Matta, S.L.P., Ribeiro Filho, O.P., Pereira, F.K.S., Rodrigues, S.S., Calado, L.L., 2010. Associação do nível de energia digestível no comprimento total, pesos das gônadas e índice gonadossomático de fêmeas de Piaçu (*Leporinus macrocephalus*, SPIX 1829) em estágio pós-larval. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 11, 242-251.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 6th ed. Artmed, Porto Alegre.
- Oliva-Teles, A., Guedes, M.J., Vachot, C., Kausshik, S.J., 2006. The effect of nucleic acids on growth, ureagenesis and nitrogen excretion of gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. **Aquaculture.** 253, 608-617.

- Parra, J.E.G., Radünz Neto, J., Veiverberg, C.A., Lazzari, R., Bergamin, G.T., Corrêia, V., Ferreira, C.C., Ferreira, F.W., 2010. Desempenho reprodutivo de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes fontes protéicas. **Arch. Zootecn.** 59(266), 255-265.
- Peng, M., Xu, W., Ai, Q., Mai, K., Liufu, Z., Zhang, K., 2013. Effects of nucleotide supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus L.*). **Aquaculture.** 392-395, 51-58.
- Penman, D., McAndrew, B., 2000. Genetics for the management and improvement of cultured tilapias. In: Beveridge, M.C.M., McAndrew, B.J. **Tilapias: Biology and Exploitation.** Kluwer Academic Publishers. 505.
- Pereira, T.S., Fabregat, T.E., Fernandes, J.B., Boscolo, C.M., Castillo, J.D.A., Koberstein, T.C.R.D., 2009. Selênio orgânico na alimentação de matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Sci., Anim. Sci.** 31(4), 433-437.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2003. The effect of dietary ribonucleic acid incorporation in performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture.** 215(1-4), 245-253.
- Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Tan, S., Kamaruzzaman, N., 2005. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture.** 247(1-4), 203-210.
- Popma, T.J., Phelps, R.P., 1998. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: Aquicultura Brasil, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 127-145.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Vecino, J.L.G., Wadsworth, S., Song, S.K., 2012. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. **J. Mar. Res. Dev.** 2, 104.
- Rossi, P., Xavier, E.G., Rutz, F., 2007. Nucleotídeos na nutrição animal. **Rev. Bras. Agrociênc.** 13(1), 5-12.
- Schreck, B., Contreras-Sanches, W., Fitzpatrick, M., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. **Aquaculture.** 197(1-4), 3-24.
- Shiau, S., Gabaudan, J., G., Lin, Y., 2015. Dietary nucleotide supplementation enhances immune responses and survival to *Streptococcus iniae* in hybrid tilapia fed diet containing low fish meal. **Aquacult. Reports.** 2, 77-81.
- Singhal, A., Macfarlane, G., Macfarlane, S., Lanigan, J., Kennedy, K., Elias-Jones, Alun., Stephenson, T., Dudek, P., Lucas, A., 2008. Dietary nucleotides and fecal microbiota

- in formula-fed infants: a randomized controlled trial. **Am. J. Clin. Nutr.** 87(6), 1785-1792.
- Tomazelli Júnior, O., Philippi, L.M.N., 2006. O brasileiro é um consumidor de pescados? **Panorama da Aqüicultura**. Rio de Janeiro, 16(95), 39-45.
- Uauy, R., 1994. Nonimmune system responses to dietary nucleotides. **J. Nutr.** 124(1), 57S-159S.
- Uauy, R., Quan, R., Gil, A., 1994. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **J. Nutr.** 124(8), 1436-1441.
- Vassalo-Agius, R., Watanabe, T., Yoshizaki, G., Satoh, S., Takeuchi, Y., 2001. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. **Fish. Sci.** 67(5), 818-827.
- Wagner, P.M., 2002. Avaliação de linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) em diferentes fases de criação. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C., Fujita, C., 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of sea bream. **Nippon Suisan Gakkaishi**. 50(3), 495-501.
- Watanabe, W.O., Losordo, T.M., Fitzsimmons, K., Hanley, F., 2002. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trends and challenges. **Rev. Fish. Sci.** 10(3), 465-498.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P.H., 2011. Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquac. Res.** 42(12), 1878-1889.
- Wild, M.B., 2013. Produtividade comercial em sistemas de reprodução de tilápia do Nilo da linhagem GIFT. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J., Yang, Y., Du, Z., Yang, Y., Zhou, Z., 2015. Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus*. **Animal Nutrition**. 1(3), 244-251.

- Yin, H.C., Huang, H., Yang, D.H., Zhao, H.Y., Jia, F., Zhang, Y., 2014. Effects of yeast nucleotide on growth performance, serum immune index and muscle composition of *Ancherythroculter nigrocauda*. **Ir. J. Fish. Sci.** 14(3), 646-659.
- Zaniboni Filho, E., 2003. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: Polo, C, R et al. (Org). **Aquicultura: Experiências brasileiras**. Multitarefa, 3.
- Zhao, H., Cao, J., Huang, Y., Zhou, C., Wang, G., Mo, W., Chen, X., 2015. Effects of dietary nucleotides on growth, physiological parameters and antioxidant responses of Juvenile Yellow Catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquac. Res.** 1-9.

2 Introdução

O crescimento mundial da aquicultura se deve principalmente à produção de peixes de água doce (FAO 2016). Em particular, a tilápia-do-Nilo se destaca nesse setor por possuir características ideais para o sistema de cultivo, como rápida taxa de crescimento e rusticidade, além de excelente qualidade de carne, sendo bem aceita pelo mercado consumidor (Righetti et al., 2011).

À medida que aumenta a produção aquícola, torna-se necessário o emprego de boas práticas de manejo que maximizem a produção de juvenis de qualidade. Para isso são necessárias dietas balanceadas para aumentar o potencial reprodutivo, especialmente de fêmeas, pois a adequada nutrição reflete positivamente na qualidade de gônadas, na formação de ovócitos e, principalmente, na qualidade da prole (Bombardelli et al., 2009).

Embora a exigência nutricional e a reprodução de peixes apresentem relação direta, as avaliações de suas implicações são restritas (Izquierdo et al., 2001). Isso estimula estudos de técnicas de manejo e nutrição que melhorem os parâmetros de desempenho reprodutivo e a qualidade da prole, pois muitos dos problemas encontrados durante os primeiros dias de vida das larvas estão relacionados à nutrição das matrizes (Pereira et al., 2009).

Sabe-se que a nutrição de fêmeas durante a vitelogênese interfere na qualidade e composição dos ovos, uma vez que os nutrientes são mobilizados pelas fêmeas e transportados para os ovócitos (Izquierdo et al., 2001). Além disso, a composição da dieta das matrizes durante a gametogênese também pode interferir na desova e na qualidade dos ovos (Mourente e Odriozola, 1990). Consequentemente, ovos de baixa qualidade podem reduzir a sobrevivência das larvas, especialmente durante a transição entre a fase de alimentação endógena para exógena.

Estudos recentes sobre a utilização de nucleotídeos como suplementos em dietas sugerem que estes compostos têm um potencial efeito positivo em períodos que exigem alta demanda por nucleotídeos no organismo dos animais e que quando a síntese endógena pode não ser suficiente (Tahmasebi-Kohyani et al., 2012; Yaghobi et al., 2015). Casos como esses são observados em pesquisas onde a suplementação na dieta teve efeito benéfico sobre o crescimento (Tahmasebi-Kohyani et al., 2012), a resposta imune (Li e Gatlin, 2006) e morfologia intestinal (Peng et al., 2013).

Os nucleotídeos são precursores dos ácidos nucléicos, fonte de energia, coenzimas e reguladores fisiológicos (Lerner e Shamir, 2000). São compostos por uma base de purina ou pirimidina (Burrells et al., 2001a; 2001b), uma pentose e um ou mais grupos de fosfato (Nelson e Cox, 2014).

A suplementação com nucleotídeos na dieta de reprodutores e matrizes de peixes pode oferecer benefícios para o desempenho reprodutivo, uma vez que a oogênese é um processo de intensa divisão celular, exigindo alta formação de ácido nucleico e alto requerimento de nucleotídeos (González-Vecino et al., 2004). Ainda, as reservas nutricionais mobilizadas das fêmeas vão servir como fontes de nutrientes nos primeiros dias de vida da prole (Mazorra et al., 2003).

Poucos trabalhos foram realizados em reprodutores e matrizes de peixes utilizando uma dieta suplementada com nucleotídeos. Portanto, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da dieta de reprodutores e matrizes suplementada com diferentes níveis de nucleotídeos no desempenho zootécnico, morfometria intestinal e hepática da prole na fase de juvenil.

3 Material e Métodos

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, protocolo nº 05/17. Foram utilizados 140 machos e 420 fêmeas, alojados separadamente em 20 hapas distribuídas aleatoriamente em dois viveiros escavados (20 m × 10 m).

Os reprodutores e matrizes foram distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela alimentação dos reprodutores e matrizes com dietas contendo 28% de proteína digestível, 2.800 kcal de energia digestível e, suplementada com 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00% de nucleotídeos purificados (Ascogen[®]) (Tabela 1), o qual possui em sua formulação 15% de nucleotídeos purificados, dentre eles timina, citosina, uracila, adenosina e guanina. Foi considerada como unidade experimental uma hapa contendo 21 fêmeas e sete machos em acasalamento.

Os reprodutores e matrizes foram alimentados com as dietas experimentais por cinco meses, de setembro de 2016 a fevereiro de 2017. As dietas experimentais fornecidas aos animais foram processadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da UFPR. Para a elaboração das rações, os ingredientes foram triturados em

moinho de martelo, utilizando-se peneira de 0,5 mm (Hayashi et al., 1999; Meurer et al., 2005).

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e de nutrientes constituintes nas rações experimentais, com diferentes níveis de suplementação de nucleotídeos purificados, utilizados na alimentação de reprodutores e matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

| Ingredientes | Nível de Nucleotídeos Ascogen® (%) | | | | |
|------------------------------|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0,00 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 |
| Farelo de soja | 53,32 | 53,32 | 53,32 | 53,32 | 53,32 |
| Milho | 28,68 | 28,68 | 28,68 | 28,68 | 28,68 |
| Farinha de peixe | 7,30 | 7,30 | 7,30 | 7,30 | 7,30 |
| Inerte ¹ | 5,16 | 5,16 | 5,16 | 5,16 | 5,16 |
| Nucleotídeos ² | 0,00 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 |
| Premix ³ | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 |
| Calcário | 0,92 | 0,92 | 0,92 | 0,92 | 0,92 |
| Sal comum | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| B H T ⁴ | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Óleo de soja | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Fosfato bicálcico | 2,54 | 2,54 | 2,54 | 2,54 | 2,54 |
| Nutrientes ⁵ | | | | | |
| Ácido linoléico (%) | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 | 0,95 |
| Amido (%) | 21,00 | 21,00 | 21,00 | 21,00 | 21,00 |
| Cálcio (%) | 1,45 | 1,45 | 1,45 | 1,45 | 1,45 |
| Cinzas (%) | 12,45 | 12,45 | 12,45 | 12,45 | 12,45 |
| Energia bruta (kcal/kg) | 3762 | 3762 | 3762 | 3762 | 3762 |
| Energia digestível (kcal/kg) | 2800 | 2800 | 2800 | 2800 | 2800 |
| Fibra bruta (%) | 3,24 | 3,24 | 3,24 | 3,24 | 3,24 |
| Fósforo total (%) | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Gordura (%) | 2,24 | 2,24 | 2,24 | 2,24 | 2,24 |
| Lisina total (%) | 1,88 | 1,88 | 1,88 | 1,88 | 1,88 |
| Matéria seca (%) | 89,50 | 89,50 | 89,50 | 89,50 | 89,50 |
| Metionina+cistina total (%) | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,18 |
| Proteína digestível (%) | 28,00 | 28,00 | 28,00 | 28,00 | 28,00 |
| Proteína bruta (%) | 31,29 | 31,29 | 31,29 | 31,29 | 31,29 |

¹Argila bentonita. ²Nucleotídeo Ascogen® (15% de nucleotídeos purificados). ³Suplemento vitamínico e mineral, composição básica: ácido fólico: 200 mg; ácido pantotênico: 4000 mg; Biotina: 40 mg; Cobre: 2000 mg; ferro: 12.500 mg; Iodo: 200 mg; Manganês: 7.500 mg; Niacina: 5000 mg; Selênio: 70 mg; Vitamina A: 1.000.000 UI; Vitamina B1: 1900 mg; Vitamina B12: 3500 mg; Vitamina B6: 2400 mg; Vitamina C: 50.000 mg; Vitamina D: 500.000 UI; Vitamina E: 20.000 UI; Vitamina K3: 500 mg; Zinco: 25.000 mg. ⁴Antioxidante. ⁵O conteúdo de nutrientes foi calculado usando o software Super Crac Premium®.

Durante o período experimental, os reprodutores e as matrizes foram submetidos ao manejo reprodutivo em hapas, permanecendo 12 dias separados e cinco dias em acasalamento (Adaptado de Bombardelli et al., 2017). Ao término do período experimental, os ovos coletados da boca das fêmeas foram incubados em incubadoras

com capacidade para 3,5 litros de água, confeccionadas em PVC, com fundo cego e redondo, com entrada e saída de água individual (MacIntosh e Little, 1995). A temperatura da água do sistema de incubação foi mantida entre 26 e 27 C°.

Após a eclosão dos ovos, 2.000 larvas com cinco dias de idade ($0,013 \pm 0,00$ g), foram distribuídas em 20 tanques de 70 litros, em delineamento experimental inteiramente casualizado, idêntico ao utilizado para os reprodutores e matrizes. Os tanques foram instalados em um sistema de recirculação de água, contendo filtros mecânicos e temperatura controlada por aquecimento elétrico. Foi considerado como unidade experimental um tanque de 70 litros contendo 100 larvas provenientes de reprodutores e matrizes alimentadas com cada uma das dietas. As larvas foram alimentadas seis vezes ao dia, até a saciedade aparente, durante 30 dias com ração comercial, processada em forma de pó, contendo 50% de proteína bruta e 60mg de 17 α -metil-testosterona.

Ao longo de todo o período experimental, os tanques foram mantidos constantemente com aeração. Os tanques foram sifonados diariamente para retirada de fezes e restos de ração. Durante este procedimento, aproximadamente 10% do volume de água foi substituído. Diariamente, pela manhã e a tarde foi mensurada a temperatura da água ($26,4 \pm 1,0$ C°; termômetro de mercúrio, com precisão de ± 1 °C) Semanalmente, foram mensurados os teores de oxigênio dissolvido ($8,2 \pm 0,08$ mg/L; oxímetro digital YSI® 550^a) e o pH ($7,5 \pm 0,20$; medidor de pH digital Tecnal® Tec 5) da água, com uso de medidores portáteis.

Após 30 dias foram coletadas todos os juvenis de cada tanque, os quais foram eutanasiados por meio de imersão em dose letal com benzocaína (250 mg/L). Em seguida, os juvenis de cada tanque foram utilizados para avaliação dos parâmetros de peso médio inicial (PMI), peso médio final (PMF), comprimento padrão (CP), comprimento total (CT), taxa de crescimento específico (TCE) (Weatherley, 1972) e fator de condição (FC) (Vazzoler, 1996). Ainda, foi mensurada a taxa de sobrevivência (SOB) para cada unidade experimental.

Em seguida, 15 juvenis foram fixados em formol a 10% e determinada a proporção sexual por meio da coloração das gônadas frescas em acetocarmin, analisadas em microscópio óptico (100X), segundo Popma e Green (1990).

Dos animais eutanasiados, foram dissecados dois juvenis de cada tanque para a coleta do fígado e intestino, destinados para análise histológica do tecido hepático e intestinal, totalizando oito fígados e oito intestinos por tratamento. Estes órgãos foram

em seguida fixados em solução de *Bouin* aquoso por um período de oito horas e, transferidos, em seguida, para solução de álcool a 70%. Posteriormente, o material foi desidratado pela passagem em séries crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina, para a obtenção de cortes transversais semi-seriados. Foram obtidos cortes do fígado com cinco micrômetros de espessura e do intestino com sete micrômetros de espessura. De cada fígado ou intestino, foi confeccionada uma lâmina contendo cinco cortes histológicos que foram submetidos a coloração com hematoxilina – eosina (H.E.). Estas lâminas foram utilizadas para as análises morfométricas do tecido hepático e do tecido intestinal.

Após o processamento histológico, foram realizadas as capturas de imagens em microscópio óptico em objetiva 100X e 40X, para amostras do fígado e do intestino, respectivamente. Dos cortes histológicos provenientes do intestino, foram mensuradas a altura das vilosidades (AV), altura dos enterócitos (AE), altura das microvilosidades (AM) de acordo com Cheng et al. (2011). Além disso, foi mensurada a altura da túnica basal (AT) (Figura 1). De cada fígado, foram mensuradas as áreas máxima (Amáx), mínima (Amin) e média (AM) de 200 hepatócitos, segundo Tessaro et al. (2012) (Figura 2). O equipamento utilizado para a captura de imagens foi um microscópio Olympus, modelo CX31, acoplado a uma câmera digital modelo Olympus SC30. Para a aquisição e análise das imagens foi utilizado o *software CellSens Standard* (Olympus).



Figura 1. Imagem obtida para análise histológica do tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. AV = altura de

vilosidade; AT = altura da túnica; AE = altura dos enterócitos; AM = altura das microvilosidades. Coloração: H.E. Barra 20 μm . Objetiva 40X.

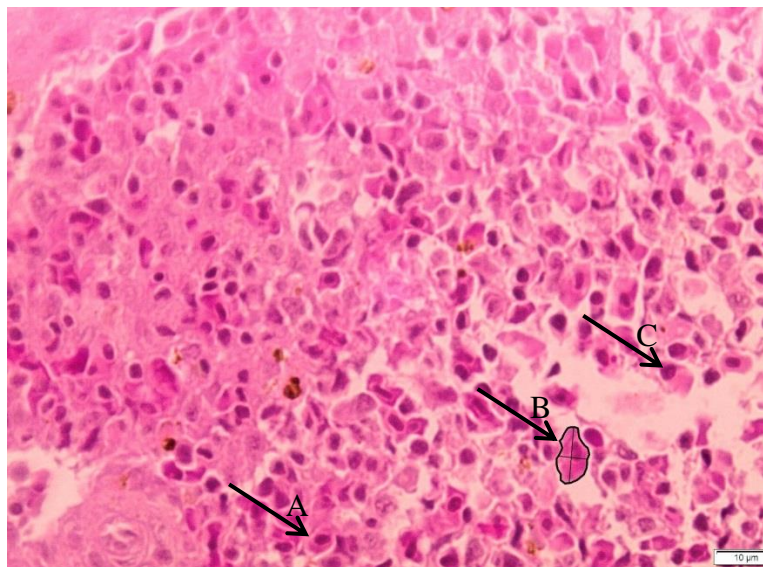


Figura 2. Imagem obtida para análise histológica do tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. A = hepatócito; B = marcação da área do hepatócito; C = núcleo do hepatócito. Coloração: H.E. Barra 10 μm . Objetiva 100X.

3.1 Análises dos Dados

Os dados obtidos foram analisados quanto a normalidade e homogeneidade das variância e posteriormente submetidos a análise de variância (ANOVA) à um nível de 7% de significância. Havendo efeitos dos tratamentos, os dados foram comparados pelo teste de comparação múltipla de médias de Duncan, também à um nível de 7% de significância. O *software* utilizado para as análises estatísticas foi o *Statistica 7.0*.

4 Resultados

4.1 Parâmetros de desempenho zootécnico

A alimentação dos reprodutores e matrizes com dietas suplementadas com nucleotídeos influenciou ($p=0,07$) o comprimento total dos alevinos. Os parentais alimentados com rações contendo 0,75% de nucleotídeos produziram alevinos maiores,

com $3,35 \pm 0,09$ cm. Os demais parâmetros de crescimento, sobrevivência e proporção sexual não foram influenciados ($p > 0,07$) pelas rações (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de crescimento, sobrevivência e proporção sexual de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados.

| Parâmetros | Teor de nucleotídeos (%) da dieta experimental | | | | | P |
|------------|--|------------|-------------|------------|------------|------|
| | 0,00 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | |
| PMI | 0,014±0,00 | 0,015±0,00 | 0,013±0,00 | 0,015±0,00 | 0,014±0,00 | 0,73 |
| PMF | 0,71±0,09 | 0,72±0,01 | 0,74±0,06 | 0,82±0,06 | 0,71±0,05 | 0,21 |
| CP | 2,47±0,12 | 2,44±0,05 | 2,45±0,10 | 2,62±0,08 | 2,44±0,08 | 0,15 |
| CT | 3,15±0,17b | 3,11±0,07b | 3,17±0,09ab | 3,35±0,09a | 3,13±0,08b | 0,07 |
| FC | 2,26±0,06 | 2,40±0,17 | 2,33±0,32 | 2,18±0,10 | 2,30±0,12 | 0,69 |
| GPM | 0,69±0,09 | 0,70±0,02 | 0,72±0,06 | 0,80±0,06 | 0,69±0,05 | 0,20 |
| TCE(%) | 5,94±0,15 | 5,86±0,05 | 6,09±0,06 | 5,98±0,21 | 6,03±0,37 | 0,74 |
| SOB(%) | 95,62±2,57 | 90,93±6,21 | 93,75±6,90 | 98,31±1,03 | 96,56±3,68 | 0,37 |
| TRS(%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | ---- |

PMI = peso inicial; PMF = peso final; CP = comprimento padrão; CT = comprimento total; FC = fator de condição; GPM = ganho em peso; TCE = taxa de crescimento específico; SOB = sobrevivência. TSR = taxa de reversão sexual. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

4.2 Morfometria do tecido intestinal

A alimentação dos reprodutores e das matrizes com as rações contendo nucleotídeos purificados aumentaram a altura dos enterócitos dos alevinos ($P=0,00$; Tabela 3) e as proles provenientes dos parentais alimentados com rações contendo 1,00% de inclusão apresentaram uma redução ($P=0,04$) da espessura da túnica basal ($12,4 \pm 1,10$ μ m; Tabela 3). A altura das vilosidades ($87,45$ μ m a $115,49$ μ m) e altura das microvilosidades ($1,42$ μ m a $1,75$ μ m) dos alevinos não foi influenciada ($P > 0,07$) pelas rações ($P > 0,07$; Tabela 3). De modo geral, as avaliações histológicas sugerem que houve a manutenção da integridade intestinal (Figura 3).

Tabela 3. Morfometria do tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados.

| Parâmetros (μ m) | Teor de nucleotídeos (%) da dieta experimental | | | | | P |
|--------------------------|--|--------------|--------------|-------------|--------------|------|
| | 0,00 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | |
| AV | 106,37±11,73 | 94,67±7,72 | 115,49±19,20 | 87,45±8,09 | 102,70±13,28 | 0,12 |
| AE | 24,59±5,04b | 30,26±1,59ab | 35,39±2,01a | 27,62±5,01b | 34,98±2,83a | 0,00 |
| AM | 1,43±0,29 | 1,49±0,07 | 1,66±0,04 | 1,42±0,09 | 1,75±0,26 | 0,13 |
| AT | 17,38±2,27a | 18,39±3,59a | 17,88±2,11a | 17,00±1,83a | 12,4±1,10b | 0,04 |

AV = altura das vilosidades; AE = altura dos enterócitos; AM = altura das microvilosidades; AT = altura da túnica. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

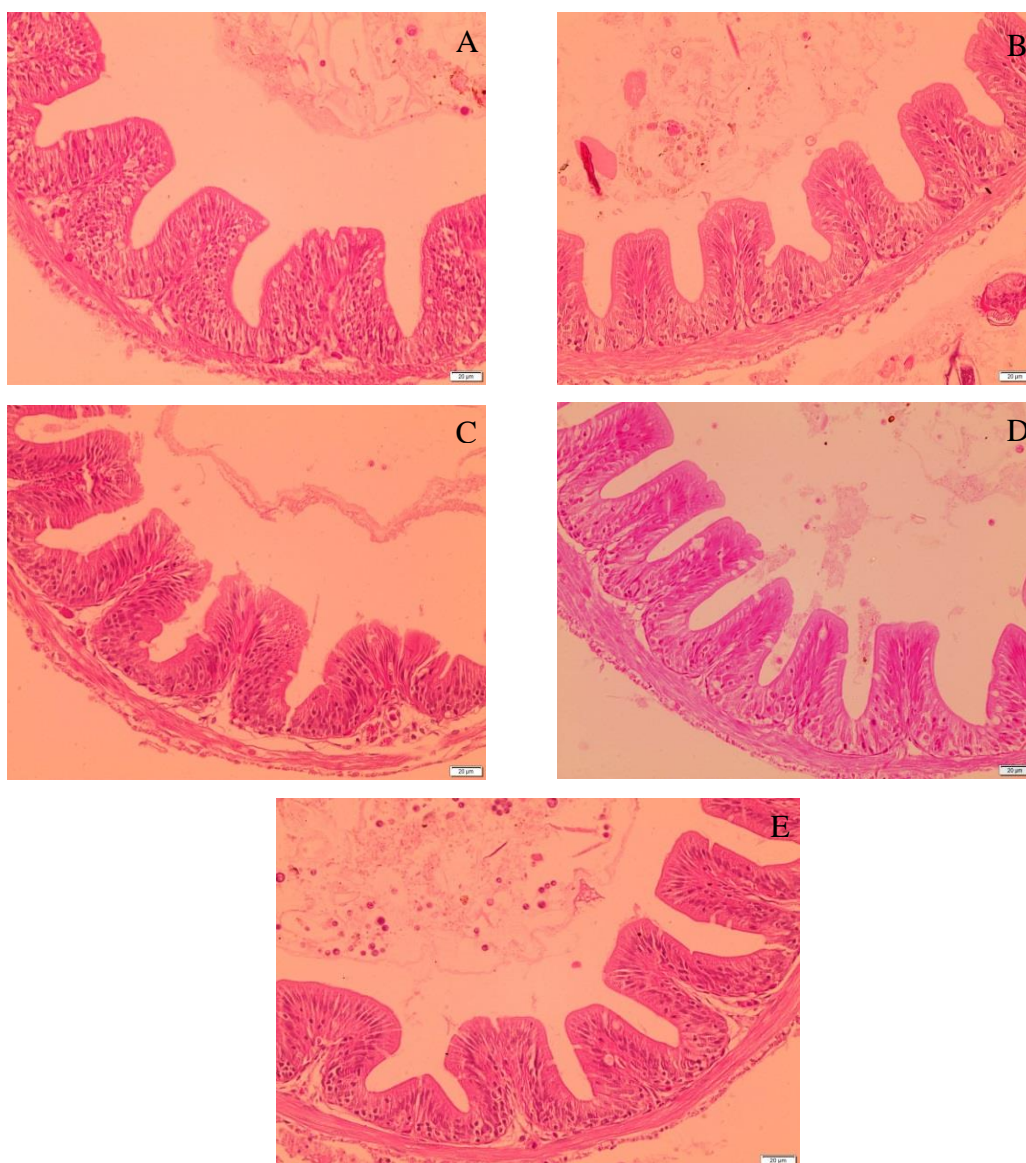


Figura 3. Tecido intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. A = tecido intestinal de juvenis provenientes de parentais alimentados com 0,0% de nucleotídeos; B = tecido intestinal de juvenis provenientes de parentais alimentados com 0,25% de nucleotídeos; C = tecido intestinal de juvenis provenientes de parentais alimentados com 0,50% de nucleotídeos; D = tecido intestinal de juvenis provenientes de parentais alimentados com 0,75% de nucleotídeos; E = tecido intestinal de juvenis provenientes de parentais alimentados com 1,00% de nucleotídeos. Coloração: H.E. Barra 20 µm. Objetiva 40X.

4.3 Morfometria do tecido hepático

A alimentação dos reprodutores e matrizes com as rações contendo nucleotídeos purificados não alteraram ($P>0,07$) a morfologia do tecido hepático dos juvenis (Figura

4). Também não foi evidenciada a presença de infiltrados inflamatórios (Figura 4). Da mesma forma que no intestino, as avaliações histológicas sugerem que houve a manutenção da integridade hepática (Figura 4)

Tabela 4. Morfometria do tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados.

| Parâmetros (μm^2) | Teor de nucleotídeos (%) da dieta experimental | | | | | P |
|-----------------------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------|
| | 0,00 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | |
| AM | 15,06 \pm 0,62 | 18,28 \pm 3,36 | 14,61 \pm 1,71 | 16,74 \pm 1,69 | 13,87 \pm 2,51 | 0,28 |
| Amáx | 38,45 \pm 8,85 | 44,16 \pm 7,97 | 37,63 \pm 4,69 | 38,53 \pm 3,09 | 38,49 \pm 2,45 | 0,67 |
| Amin | 5,19 \pm 1,71 | 6,22 \pm 0,63 | 5,57 \pm 0,79 | 6,52 \pm 0,27 | 4,68 \pm 0,65 | 0,16 |

AM = área médias do hepatócitos; Amáx = área máxima dos hepatócitos; Amin = área mínima dos hepatócitos. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

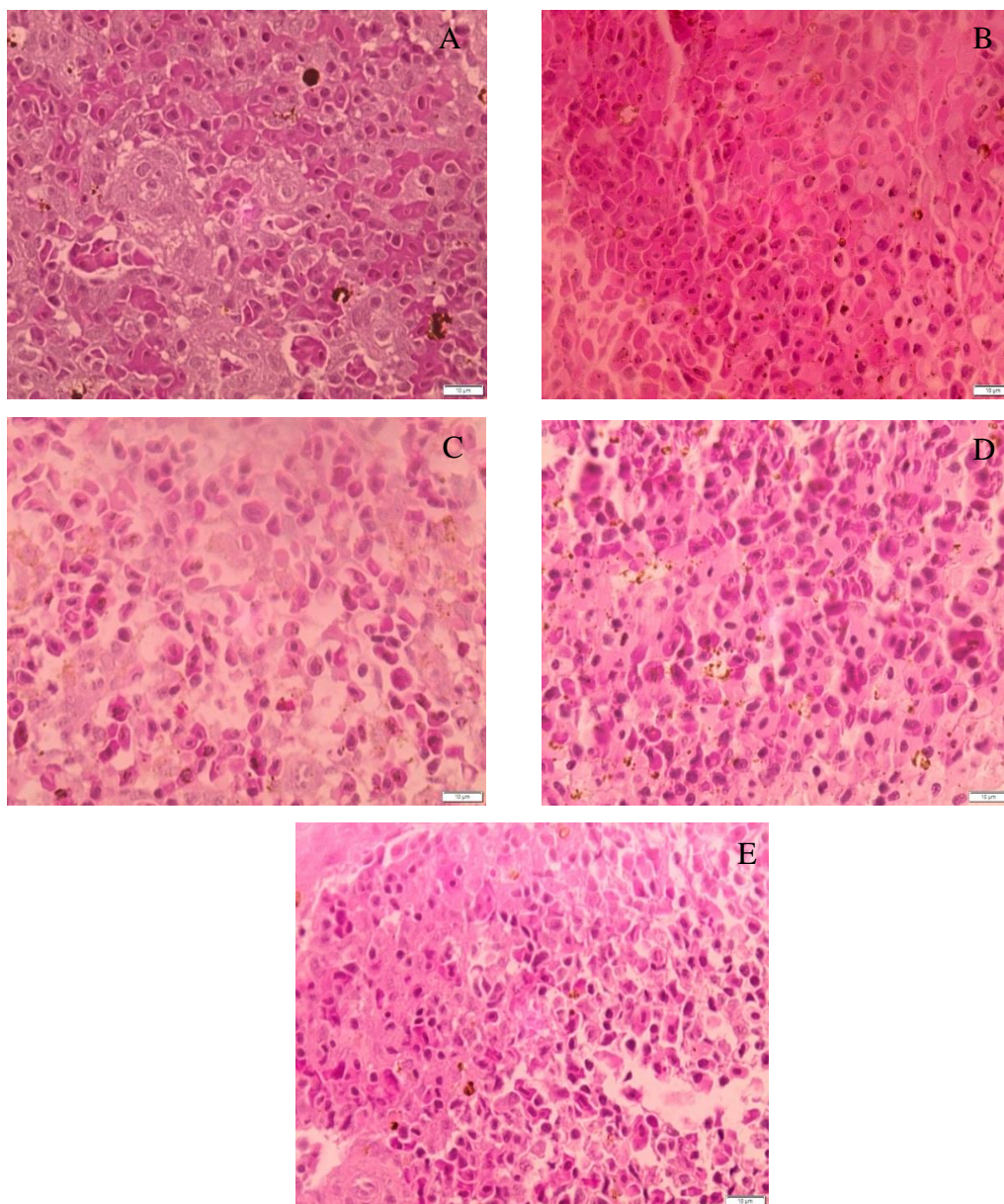


Figura 4. Tecido hepático de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos purificados. A = tecido hepático de juvenis provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com 0,0% de nucleotídeos; B = tecido hepático de juvenis provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com 0,25% de nucleotídeos; C = tecido hepático de juvenis provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com 0,50% de nucleotídeos; D = tecido hepático de juvenis provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com 0,75% de nucleotídeos; E = tecido hepático de juvenis provenientes de reprodutores e matrizes alimentados com 1,00% de nucleotídeos. Coloração: H.E. Barra 10 µm. Objetiva 100X.

5 Discussão

A suplementação com Ascogen[®] nas dietas dos reprodutores e matrizes interferiu no crescimento da prole, aumentando o comprimento total. Este efeito pode estar relacionado com os processos fisiológicos das matrizes (Navas et al., 1998) ligados à produção e à incorporação de vitelogenina nos ovócitos (Coward et al., 2002). O vitelo é a principal fonte nutricional durante os primeiros dias de vida larval, disponibilizando nutrientes importantes e energia para atender ao metabolismo larval e à ontogênese (Vassalo-Agius et al., 2001). Conseqüentemente, o crescimento durante períodos mais longos de criação, que se estendem até a fase de juvenil, podem estar relacionados com o estágio inicial de vida das larvas, pois a disponibilidade de nutrientes durante os primeiros dias de vida influenciam no desenvolvimento larval (Mazorra et al., 2003).

Existe uma quantidade restrita de trabalhos sobre nutrição de reprodutores e matrizes de peixes, principalmente quando é considerada a avaliação da prole em estágios de vida que se estendem até a fase de juvenil ou quando as proles independem de suas reservas nutricionais endógenas. González-Vecino et al. (2004) verificaram que a utilização de nucleotídeos em dietas para reprodutores de *Melanogrammus aeglefinus* L., melhoraram a fecundidade, a qualidade e a morfometria do ovo, contudo o desempenho das proles não foi analisado. Também, Sousa et al. (2013) verificaram o efeito da alimentação das matrizes de tilápia-do-Nilo sobre a prole, utilizando diferentes níveis de proteína e energia digestível, onde não foi observado influência sobre o crescimento e sobrevivência.

Estudos indicam que a suplementação com nucleotídeos podem ter efeitos variados no crescimento, dependendo da espécie, período de alimentação, estágios de vida e o tipo de suplemento de nucleotídeo (Li e Gatlin, 2006). De modo geral, a

inclusão do Ascogen[®] nas rações dos parentais promoveu a transferência de fatores nutricionais das matrizes para as proles por meio do vitelo. Estes fatores nutricionais certamente impulsionaram a organogênese das proles nos primeiros dias de vida, resultando em maior crescimento corporal e alterações na morfometria intestinal nos alevinos de 30 dias de vida. Apesar de não haver relatos para peixes nesta fase de criação, efeitos como estes são esperados em animais alimentados com dietas suplementadas com nucleotídeos, pois estas moléculas atuam em tecidos que apresentam elevadas taxas de multiplicação ou crescimento celular (Li e Gatlin, 2006; Welker et al, 2011). Neste caso, apesar de não ter sido verificado efeito estatístico dos tratamentos, vale destacar que as médias de outros parâmetros de crescimento e sobrevivência também apresentaram valores numéricos superiores nos mesmos alevinos que apresentaram maior comprimento corporal, provenientes de parentais alimentados com rações contendo 0,75% de nucleotídeos. Além disso, apesar do efeito positivo dos nucleotídeos sobre os enterócitos, pontualmente em 0,75% de suplementação foi verificada uma redução na altura destas células. Este efeito não possui explicação biológica e possivelmente está associado ao reduzido número de animais utilizados nas análises histológicas.

A suplementação de nucleotídeos na dieta de peixes além de apresentar efeitos benéficos para o crescimento, também pode atuar na função do trato gastrointestinal (Xu et al., 2015). Estudos indicam que a suplementação de nucleotídeos aumenta a área superficial da mucosa do intestino (Burrells et al., 2001b), altura da dobra do intestino distal, a altura dos enterócitos e das microvilosidades (Cheng et al., 2011; Peng et al., 2013). Assim, na fase inicial de desenvolvimento das larvas, devido ao acelerado processo de multiplicação celular, alguns tecidos como células gastrointestinais, podem necessitar maiores quantidades de nucleotídeos (Cheng et al., 2011), sendo a suplementação dietética uma alternativa viável para promover a proliferação celular deste tecido (Welker et al., 2011) e atender às elevadas demandas de nucleotídeos para a síntese de DNA e RNA (Yousefi et al., 2012; Peng et al., 2013). Devido à ampla ação dos nucleotídeos no organismo animal, as melhoras no crescimento também podem estar associadas ao metabolismo proteico e à sua influência sobre o perfil proteômico dos músculos (Keyvanshokoo e Tahmasebi-Kohyani, 2012) ou à melhora na resposta imune dos animais (Peng et al., 2013).

Por outro lado, a redução do desempenho em animais alimentados com rações contendo os maiores níveis de inclusão de nucleotídeos tem sido relatada. Nesse caso, a

composição dos nucleotídeos tem grande influencia uma vez que elevadas quantidades de adenina livres estão relacionadas com a inibição da ingestão de alimentos e conseqüentemente com a perda de desempenho em *Sea bream* (Oliva-Teles et al., 2006). Geralmente em animais monogástricos, dietas com altos níveis de ácidos nucléicos aumentam o ácido úrico no plasma e causam distúrbios e efeitos tóxicos no metabolismo (Rumsey et al., 1991). Diferente dos animais terrestres, peixes parecem tolerar altos níveis de ácido úrico pela ação ativa da enzima uricase (Rumsey et al., 1991). Esta tolerância pode ser parcialmente corroborada pelos resultados da morfologia do tecido hepático, uma vez que não foram identificadas alterações significativas.

Em conjunto, os resultados desta pesquisa indicam que a alimentação de matrizes e reprodutores de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com rações contendo nucleotídeos purificados melhoram a qualidade dos alevinos aos 30 dias de idade. No entanto, os mecanismos envolvidos nestes processos ainda precisam ser elucidados.

6 Conclusão

A alimentação de reprodutores e matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com rações contendo nucleotídeos purificados melhoraram a condição intestinal e, os alevinos provenientes de parentais alimentados com rações contendo 0,75% de nucleotídeos apresentaram o maior crescimento corporal.

Referências

- Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M.R.M., Sanches, E.A., Piana, P.A., 2009. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. **R. Bras. Zootec.** 38(8), 1391-1399.
- Bombardelli, R.A., dos Reis Goes, E.S., de Negreiros Sousa, S.M., Syperreck, M.A., Goes, M.D., de Oliveira Pedreira, A. C., Meurer, F. 2017. Growth and reproduction of female Nile tilapia fed diets containing different levels of protein and energy. **Aquaculture.** 479, 817-823.
- Burrells, C., Williams, P.D., Forno, P.F., 2001a. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonoids. **Aquaculture.** 199(1-2), 159-169.

- Burrells, C., Williams, P.D., Southgate, P.J., Wadsworth, S.L., 2001b. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**. 199(1-2), 171-184.
- Cheng, Z., Buentello, A., Gatlin, D.M., 2011. Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum *Sciaenops ocellatus*. **Fish Shellfish Immunol.** 30(1), 143-147.
- Coward, K., Bromage, N.R., Hibbitt, O., Parrington, J., 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Rev. Fish Biol. Fish.** 12, 33-58.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma.
- González-Vecino, J.L., Cutis, C.J., Batty, R.S., Mazorra de Quero, C., Greenhaff, P.L., Wadsworth, S., 2004. Short e long term effects of a nucleotide enriched broodstock diet on the reproductive performance of haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). **Abstract Book of 11th International Symposium on nutrition and Feeding in Fish.** Phuket. Thailand, 99.
- Hayashi, C., Boscolo, W.R., Soares, C.M., Boscolo, V.R., Galdioli, E.M., 1999. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Sci., Anim. Sci.** 21(3), 733-737.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**. 197(1-4), 25-42.
- Keyvanshokoh, S., Tahmasebi-Kohyani, A., 2012. Proteome modifications of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle as an effect of dietary nucleotides. **Aquaculture**. 324-325, 79-84.
- Lerner, A., Shamir, R., 2000. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. **IMA J.** 2(10), 772-774.
- Li, P., Gatlin, D.M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. **Aquaculture**. 251(2-4), 141-152.
- MacIntosh, D.J., Little, D.C., 1995. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. **Blackwell Science Ltd., London.** 277-320.
- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J., Papanikos, N., Porter, M., N, Bromege., 2003. Dietary lipid enhancement of

- broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**. 227(1-4), 21-33
- Meurer, F., Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Carlos, F.D., 2005. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Sci., Anim. Sci.** 27(1), 81-85.
- Mourente, G., Odriozola, J.M., 1990. Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Fish Physiol. Biochem.** 8, 93-101.
- Navas, J.M., Manãnos, E., Thrush, M., Ramos, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Zohar, Y., Bromage, N., 1998. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture**. 165, 65-79.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6th ed. Artmed, Porto Alegre.
- Oliva-Teles, A., Guedes, M.J., Vachot, C., Kaushik, S.J., 2006. The effect of nucleic acids on growth, ureagenesis and nitrogen excretion of gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. **Aquaculture**. 253(1-4), 608-617.
- Peng, M., Xu, W., Ai, Q., Mai, K., Liufu, Z., Zhang, K., 2013. Effects of nucleotide supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**. 392-395, 51-58.
- Pereira, T.S., Fabregat, T.E., Fernandes, J.B., Boscolo, C.M., Castillo, J.D.A., Koberstein, T.C.R.D., 2009. Selênio orgânico na alimentação de matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Sci., Anim. Sci.** 31(4), 433-437.
- Popma, T.J., Green, B.W., 1990. Aquacultural production manual: sex reversal of tilapia in earthen ponds. **Research and Development Series**. 35, 1-15.
- Righetti, J.S., Furuya, W.M., Conejero, C.I., Graciano, T.S., Vidal, L.V.O., Michellato, M., 2011. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-Nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **R. Bras. Zootec.** 40(3), 469-476.
- Rumsey, G.L., Kinsella, J.E., Shetty, K.J., Hughes, S.G., 1991. Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Anim. Feed Sci. Technol.** 33, 177-183.

- Sousa, S.M.N., F, A., Santos, L.D., Meurer, F., Tessaro, L., Bombardelli, R.A., 2013. Growth of Nile tilapia post-larvae from broodstock fed diet with different levels of digestible protein and digestible energy. **R. Bras. de Zootec.** 42(8), 535-540.
- Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokoo, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H., 2012. Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response. **Fish Physiol. Biochem.** 38(2), 431-440.
- Tessaro, L., Toledo, C.P.R., Neumann, J., Krause, R.A., Meurer, F., Natali, M.R.M. Bombardelli, R.A., 2012. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. **Aquaculture.** 326-329, 74-80.
- Vassalo-Agius, R., Watanabe, T., Yoshizaki, G., Satoh, S., Takeuchi, Y., 2001. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. **Fish. Sci.** 67(5), 818-827.
- Vazzoler, A.E.A.M., 1996. Biologia de reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: Eduem. 169.
- Weatherley, A.H., 1972. Growth and ecology of fish populations. **London and New York: Academic Press.** 293.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P.H., 2011. Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquac. Res.** 42(12), 1878-1889.
- Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J., Yang, Y., Du, Z., Yang, Y., Zhou, Z., 2015. Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus*. **Animal Nutrition.** 1(3), 244-251.
- Yaghobi, M., Paykan, H., Dorafshan, S., Mahmoudi, N., 2015. Serum biochemical changes and acute stress responses of the endangered iridescent catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) supplied with dietary nucleotide. **J. Agr. Sci. Tech.** 17(5), 1161-1170.
- Yousefi, M., Abtahi, B., Kenari, A., 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of beluga sturgeon (*Huso*

huso, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. **Comp. Clin. Pathol.** 21(5), 1043-1048.