



Vitamina B12 na qualidade do sêmen de jundiás, *Rhamdia voulezi* criados em tanques-rede

B12 Vitamin and its influence on semen quality of silver catfish, *Rhamdia voulezi* reared in cages

**Odair Diemer¹, Thêmis Sakaguti Graciano², Wilson Rogério Boscolo², Aldi Feiden², Altevir Signor²,
Arcangelo Augusto Signor³**

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n 85911-140 - Jaboticabal, SP. E-mail: odairdiemer@hotmail.com

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Departamento de Engenharia de Pesca, Toledo, PR;

³Instituto Federal do Paraná (IFPR), Departamento de Aquicultura Foz do Iguaçu, PR.

Recebido em: 03/04/2013

Aceito em: 03/11/2013

Resumo. O trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do sêmen de reprodutores de jundiás criados em tanques-rede alimentados com dietas com níveis crescentes de vitamina B12. Foram utilizados seis tratamentos e três repetições constituídos por seis rações com níveis crescentes de vitamina B12 (0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg kg⁻¹ de ração), incluídas nas dietas basais através do suplemento mineral e vitamínico e incluídas em dieta basal. Seis peixes de cada tratamento foram selecionados aleatoriamente e transportados ao laboratório para a coleta de sêmen. A coleta de sêmen foi realizada por pressão abdominal até a redução na liberação, evitando-se qualquer sinal de sangramento. Os parâmetros avaliados dos animais foram peso final, volume de sêmen, concentração espermática e motilidade dos espermatozóides. Não foram observados efeitos ($P>0,05$) para o peso final, volume do sêmen e concentração espermática. Contudo, a motilidade dos espermatozóides foi influenciada ($P<0,05$) pela alimentação. A inclusão de 1,0 mg de vitamina B12/kg de ração proporcionou uma melhora na motilidade espermática.

Palavras-chave. Espermatozóides, nutrição de peixes, reprodução de peixes

Abstract. The study aimed to assess the quality of semen breeding silver catfish reared in cages fed diets with increasing levels of vitamin B12. It was used six treatments and three replicates consisting of six diets made to contain increasing levels of B12 vitamin (0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/kg diet), supplemented with vitamin and mineral supplement and included in the basal diet. Six fish were captured randomly from each treatment, randomly selected and transported to the laboratory for semen collection. The semen collection was performed by abdominal pressure by reducing the release, avoiding any sign of bleeding. The parameters evaluated were the final weight, semen volume, sperm concentration and motility. No effects were observed ($P>0.05$) in final weight, semen volume and sperm concentration. However, sperm motility was affected ($P<0.05$) by feeding. The addition of 1.0 mg of vitamin dietary B12/kg provided an improvement in sperm motility.

Keywords. Fish nutrition, fish reproduction, sperm

Introdução

O jundiá tem recebido considerável interesse de pesquisadores e piscicultores, devido principalmente a algumas características como rápido crescimento, fácil adaptação à criação intensiva, rusticidade, facilidade na indução à reprodução, carne saborosa e boa aceitação pelo mercado consumidor (Diemer et al., 2011).

Para o sucesso da criação comercial do jundiá é de suma importância um bom desempenho

reprodutivo e uma das maneiras de melhorar e maximizar a produção da prole é a adequada nutrição dos reprodutores que reflete significativamente na qualidade dos óvulos e espermatozóides (Parra et al., 2008). Além disso, segundo Pezzato et al. (2004) quando os peixes são estocados em tanques-rede, a única fonte de nutrientes é a ração. Portanto, a ração deve atender as necessidades nutricionais, satisfazendo as exigências de nutrientes para as atividades reprodutivas.



As vitaminas são essenciais para o bom desempenho reprodutivo, sendo exigidas para a execução de funções celulares específicas. Contudo, apesar dos requerimentos vitamínicos serem baixos suas deficiências, podem causar sintomas que variam da perda de apetite até deformidades teciduais graves, sendo fundamentais para o status nutricional e sanitário dos peixes (Toyama et al., 2000). Por funcionar como uma coenzima em um grande número de reações bioquímicas, sua deficiência em reprodutores pode implicar na má formação da prole (Paniz et al., 2005).

Apesar de muitos autores terem demonstrado a importância das vitaminas sobre o desempenho reprodutivo, ainda são escassos estudos que correlacionem o uso de vitamina B12 na nutrição de peixes e esta apresenta principalmente funções ligadas a saúde e formação tecidual (Kakehasi et al., 2012). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade seminal de reprodutores de jundiás estocados em tanques-rede alimentados com dietas com níveis crescentes de vitamina B12.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no CDT-Iguaçu (Centro de Desenvolvimento e Difusão de Tecnologias do rio Iguaçu) UNIOESTE/GEMAq localizado no Reservatório Governador Jose Richa, no município de Boa Vista da Aparecida – PR.

Foram distribuídas 900 matrizes de jundiás com peso médio de 68,51 ± 8,44 g e comprimento médio de 19,1 ± 0,68 cm em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e três repetições. As unidades experimentais foram constituídas de 18 tanques-rede, com dimensões de 1,5 x 2,0 x 2,0 m (comprimento x largura x profundidade) totalizando cinco m³ de volume útil, sendo a unidade experimental composta por um tanque com 50 peixes.

Os tratamentos foram constituídos por seis rações elaboradas com níveis crescentes de vitamina B12 (0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg kg⁻¹ de ração) incluídas nas dietas basais através do suplemento mineral e vitamínico, sendo as mesmas isoprotéicas (35% de PB) e isoenergéticas (3.000 kcal kg⁻¹ de ED) e submetidas ao processamento de extrusão na fábrica-escola da UNIOESTE/GEMAq localizada no município de Toledo – PR e fornecidas duas vezes ao dia às 8h00 e 17h00 até a saciedade aparente por 210 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Composição percentual e química das rações experimentais com diferentes níveis de vitamina B12.

Ingredientes (%)	Níveis de vitamina B12 (mg kg ⁻¹)					
	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00
Farelo de soja	40,85	40,85	40,85	40,85	40,85	40,85
Farinha vísceras de aves	22,73	22,73	22,73	22,73	22,73	22,73
Milho grão	18,27	18,27	18,27	18,27	18,27	18,27
Quirera de arroz	16,98	16,98	16,98	16,98	16,98	16,98
Premix*	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL-Metionina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de sódio	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada						
Amido (%)	23,77	23,77	23,77	23,77	23,77	23,77
Cálcio (%)	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16
Energia digestível (kcal kg ⁻¹)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Fósforo total (%)	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Gordura (%)	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
Proteína bruta (%)	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00

* Níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 250.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato Ca - 4.000 mg; vit. C - 10.000 mg; biotina - 10 mg; Inositol - 1.000 mg; nicotinamida - 7.000 mg; colina - 10.000 mg; Co - 10 mg; Cu - 1.000 mg; Fe - 5.000 mg; I - 200 mg; Mn - 1.500 mg; Se - 30 mg; Zn - 9.000 mg.



A qualidade da água do local foi monitorada através das variáveis: temperatura da água, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido medidos mensalmente "in situ", isto é, no local através de potenciômetros portáteis Hanna Instruments®.

No período reprodutivo (fevereiro/2012) seis machos de cada tratamento que liberaram sêmen sob leve compressão no abdômen no sentido céfalo-caudal foram selecionados para avaliação da qualidade seminal

Os peixes selecionados foram conduzidos para o laboratório de reprodução localizado as margens do reservatório onde foram individualmente pesados e marcados sendo posteriormente, acondicionados em uma caixa de água de 1.000 litros com renovação de água constante. A coleta do sêmen foi realizada com um macho por vez sendo desprezada a primeira gota de sêmen, evitando possível contaminação. O restante foi coletado em um tubo Falcon para mensuração do volume de sêmen liberado.

A manipulação do sêmen foi realizada conforme o procedimento descrito por Asturiano et

al. (2001). Foram avaliados o peso final, volume do sêmen, tempo de duração da motilidade espermática segundo Sanches et al. (2009) e concentração espermática pelo método de espermátocrito segundo Sanches et al. (2011a).

Para atender as premissas da análise de variância (ANOVA), todos os dados foram submetidos à análise de normalidade e homogeneidade. Posteriormente, os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey o nível de 5% de significância

Resultados e Discussão

As variáveis da qualidade de água do reservatório, temperatura $23,00 \pm 1,25$ °C, oxigênio dissolvido $6,93 \pm 0,67$ mg.L⁻¹, pH $7,44 \pm 0,27$ e condutividade elétrica $28,79 \pm 7,59$ µS.cm⁻¹ permaneceram dentro da faixa de condição ideal para criação de peixes tropicais (Arana, 2004).

Os diferentes níveis de vitamina B12 na ração não afetaram (P<0,05) o peso final, volume do sêmen e concentração espermática. Contudo, a motilidade dos espermatozóides foi influenciada (P>0,05) pela inclusão dietética de vitamina B12 (Tabela 2).

Tabela 2. Qualidade seminal de reprodutores de jundiás estocados em tanques-rede alimentados com dietas com níveis crescentes de vitamina B12.

Parâmetros	Níveis de vitamina B12 (mg kg ⁻¹)						CV(%)
	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	
Peso final (g)	225	191	183	237	194	190	28,40 ^{ns}
Volume do sêmen (mL)	2,00	2,63	2,08	1,90	2,50	1,75	53,91 ^{ns}
Concentração de espermatozóides (×10 ¹⁰ .mL ⁻¹)	2,69	2,59	3,00	2,71	2,57	2,88	13,32 ^{ns}
Motilidade (s)	42c	41c	57b	65a	54bc	44c	19,47*

ns - não significativo; *Valores na mesma linha seguidos de letra diferente diferem (p>0,05) pelo teste Tukey.

Em comparação a outros estudos como de Bombardelli et al. (2006) com o *Rhamdia quelen* e Sanches et al. (2011b) com o *Rhinelepis aspera*, verificou-se que o sêmen coletado no presente trabalho apresentou características similares, e portanto, adequadas para a reprodução, indicando que reprodutores machos de jundiás podem ser estocados em tanques-rede sem implicações para a qualidade do sêmen.

Na análise de volume do sêmen, não foi observado influência (P>0,05) dos níveis crescentes de suplementação de vitamina B12. Valores

similares foram relatados por Borges et al. (2005) para o *Rhamdia quelen*, espécie do mesmo gênero. O fato da vitamina B12 não ter interferido no volume do sêmen é devido sua função estar mais direcionada como mecanismo protetor do sêmen.

A concentração espermática também não foi influenciada (P>0,05), contrariando os resultados encontrados por Abrahão (2006), que evidenciou efeito positivo da suplementação de vitamina A sobre a concentração de espermatozóides no sêmen de suínos. Contudo, concordando com Martins et al.



(2009) ao avaliarem as características seminais em reprodutores suínos.

Para a motilidade espermática foi observado efeito com maior tempo de motilidade para o nível de suplementação de 1,00 mg kg⁻¹, demonstrando uma baixa motilidade espermática associado a carência da vitamina B12, reforçando sua importância nos processos reprodutivos. Neste sentido, Ha & Zhao (2003) relataram que a vitamina B12 pode melhorar a motilidade espermática do sêmen de ovelhas depois da criopreservação.

Provavelmente, a motilidade aumentou devido ao acréscimo no plasma seminal de glutatona, o que daria maior proteção contra a peroxidação lipídica, como descrito por Vézina et al. (1996). Da mesma forma, Hu et al. (2007) encontraram melhora significativa na motilidade do sêmen de bovinos com a utilização de vitamina B12.

Desta forma, a vitamina B12 pode ser um constituinte essencial para espermatogênese em peixes. Contudo, mais pesquisas são necessárias para avaliar e compreender seu papel fisiológico preciso na reprodução.

Conclusão

O sêmen apresentou características adequadas para a reprodução e a inclusão de 1,00 mg de vitamina B12 por kg de ração proporcionou uma melhora na motilidade espermática.

Referências

ABRAHÃO, A.A.F. **Vitamina A na nutrição de cachacos: Análise qualitativa e quantitativa do sêmen de cachacos submetidos à suplementação de vitamina A na dieta.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo, Pirassununga, 124 p., 2006.

ARANA, L.V. Fundamentos da aquíicultura. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004. 349p.

ASTURIANO, J.F.; SORBERA, L.A.; CARRILO, M.; ZANUY, S.; RAMOS, J.; NAVARRO, J.C.; BROMAGE, N.; Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed two PUFA - enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. **Aquaculture**, v.194, p.173-190, 2001.

BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R.; SANCHES, E. A.; SYPERRECK, M.A. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.

BORGES, A.; SIQUEIRA, D.S.; JURINITZ, D.F.; ZANINI, F.A.; GRILLO, M.L.; OBERST, E.R.; WASSERMANN, G. F. Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.31, n.1, p.45-53, 2005.

DIEMER, O.; BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.A.; SARY, C.; NEU, D.H.; FEIDEN, A. Níveis de fósforo total na alimentação de juvenis de jundiá criados em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.4, p.559-563, 2011.

HA, F.; ZHAO, Y.Z. Vitamin B complex as a complement in the thawing dilutions of the ram semen. **China Herbivores**, v.23, p.19-20, 2003.

HU, J. H.; LI, Q.W.; CHEN, Y.L.; JIANG, Z.L.; JIA, Y.H.; WANG, L.Q. Effects of addition of vitamin B12 to the extender on post-thaw motility, acrosome morphology, and plasma membrane integrity in bull semen. **Journal Veterinary Animal Science**, v.33, n.5, p.379-384, 2007.

KAKEHASI, A.M.; CARVALHO, A. V.; FABIANA MAKSUD, A. N.; BARBOSA, A. J. A Níveis séricos de vitamina B12 não se relacionam com baixa densidade mineral óssea em mulheres brasileiras na pós-menopausa. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.52, n.6, p.858-869, 2012.

MARTINS, S.M.M.K.; ABRAHÃO, A.A.F.; VIANNA, W.L.; ANDRADE, R.P.; ARRUDA, A. F. Avaliação da suplementação de vitamina A nas características seminais em reprodutores suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1518-1524, 2009.

PANIZ, C.; GROTO, D.; SCHMITT, G.C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K.L.; POMBLUM, V.G.; GARCIA, S.C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia Medicinal Laboratorial**. v.41, n.5, p.323-34, 2005.



PARRA, J.E.G.; RADÜNZ-NETO, J.; VEIVERBERGI, C.A.; LAZZARI, R.; BERGAMINI, G.T.; PEDRONI, F.A.; ROSSATOIII, S.; SUTIL, F.J. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.2011-2017, 2008.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSI, D.M., CYRINO, J.E.P. **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**, in: Cyrino, J.E.C. (Ed.) Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, TecArt, cap. 5, p.75-170. 2004.

SANCHES, E.A.; BOMBARDELLI, R. A., BAGGIO, D.M.; SOUZA, B.E. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2091-2098, 2009.

SANCHES, E.A.; MARCOS, R.M.; BAGGIO, D.M.; TESSARO, L.; BALEN, R.E.; BOMBARDELLI, R.A. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.6, p.1163-1167, 2011a.

SANCHES, E.A.; BOMBARDELLI, R.A.; BAGGIO, D.M.; SYKORA, R.M.; XAVIER, A.M.M. Características seminais do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.3, p.357-362, 2011b.

TOYAMA, C.N.; CORRENTE, J.E.; CYRINO, J.E.P. Suplementação de vitamina c em rações para reversão sexual da tilápia do nilo. **Scientia Agricola**, v.57, n.2, p.221-228, 2000.

VÉZINA, D., MAUFFETTE, F., ROBERTS, K.D., BLEAU, G.: SELENIUMVITAMIN E. Supplementation in infertile men. Effects on semen parameters and micronutrient levels and distribution. **Biological Trace Element Research**, v.53, p.65-83, 1996.