



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

MAURÍCIO BEZERRA PEDRO JÚNIOR

**EFEITO DA ASTAXANTINA COMERCIAL DA MICROALGA *Haematococcus*
Pluvialis NA CONCENTRAÇÃO E MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE
REPRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis Niloticus*)**

Recife

2026

MAURÍCIO BEZERRA PEDRO JÚNIOR

**EFEITO DA ASTAXANTINA COMERCIAL DA MICROALGA *Haematococcus*
Pluvialis NA CONCENTRAÇÃO E MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE
REPRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis Niloticus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de bacharelado em
Engenharia de Pesca da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de
Engenheiro de Pesca.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Ferreira
dos Santos

Recife
2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

J95e Júnior, Maurício Bezerra Pedro.
Efeito da astaxantina comercial da microalga
Haematococcus Pluvialis na concentração e morfologia
espermática de reprodutores de Tilápia do Nilo (*Oreochromis
Niloticus*) / Maurício Bezerra Pedro Júnior. – Recife, 2026.
32 f.; il.

Orientador(a): Juliana Ferreira dos Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em
Engenharia de Pesca, Recife, BR-PE, 2026.

Inclui referências.

1. Astaxantina. 2. Tilápia (Peixe) - Nutrição. 3. Tilápia
(Peixe) - Qualidade espermática. 4. Tilápia (Peixe) -
Reprodução 5. Espermatogênese em animais. I. Santos,
Juliana Ferreira dos, orient. II. Título

CDD 639.3

MAURÍCIO BEZERRA PEDRO JÚNIOR

**EFEITO DA ASTAXANTINA COMERCIAL DA MICROALGA *Haematococcus*
Pluvialis NA CONCENTRAÇÃO E MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE
REPRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis Niloticus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de bacharelado em
Engenharia de Pesca da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de
Engenheiro de Pesca.

Aprovado em: 15/07/2026

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Juliana Ferreira dos Santos (Orientadora)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Gelcirene de Albuquerque Costa (Examinador Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Guilherme Melgaço Heluy (Examinador Externo)
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Msc. Douglas Lemos de Souza (Examinador Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho a Deus e a todas as pessoas que me apoiam e me amam.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço todo o apoio e o companheirismo de todos do Laboratório de Sistemas de Produção Aquícola (LAPAq), em especial Yugo Pastrana, que me proporcionou todos os ensinamentos referente às análises de qualidade espermática.

Sou grato aos meus amigos e familiares que fizeram parte da minha jornada acadêmica e contribuíram, de alguma forma, para a minha formação.

Também agradeço aos alunos dos quais tive a honra de ser monitor na disciplina de Fisiocologia de Animais Aquáticos, pela troca de conhecimentos, confiança e pelos aprendizados que tornaram minha experiência acadêmica mais significativa.

RESUMO

A qualidade espermática é um dos principais fatores relacionados ao sucesso da reprodução em peixes, e essa qualidade pode ser influenciada pela nutrição dos reprodutores. Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de astaxantina comercial proveniente da microalga *Haematococcus pluvialis*, no desempenho zootécnico, na concentração e na morfologia espermática de machos reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados ao total 80 indivíduos distribuídos em quatro tratamentos contendo 0, 50, 100 e 150 mg de astaxantina/kg de ração, com quatro repetições por tratamento e 5 peixes por unidade experimental. Após o período de 45 dias que ocorreu o experimento, foi realizada a biometria final para a avaliação do desempenho zootécnico, também foram coletados os sêmens dos reprodutores e submetidos às análises de concentração e morfologia espermática. O desempenho zootécnico não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. A concentração espermática também não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($P = 0,101$), embora tenha sido observado um aumento progressivo das médias com a elevação da adição dos níveis de astaxantina. Em relação às características morfológicas foram observadas diferenças significativas para a porcentagem de espermatozoides normais ($P = 0,005$) e para a frequência de cabeça solta ($P = 0,027$), onde o tratamento contendo 100 mg/kg de astaxantina apresentou maior porcentagem de espermatozoides normais e menor frequência de cabeça solta, comparado aos demais tratamentos. A adição de 100 mg/kg de astaxantina melhora parâmetros relacionados à qualidade espermática de reprodutores de tilápia do Nilo, especialmente a morfologia dos espermatozoides, sem comprometer o desempenho zootécnico dos animais.

Palavras-chave: Astaxantina; Tilápia do Nilo; Nutrição; Qualidade espermática; Reprodução.

ABSTRACT

Sperm quality is one of the main factors related to reproductive success in fish, and this quality can be influenced by broodstock nutrition. In this context, this study aimed to evaluate the effects of the addition of commercial astaxanthin derived from the microalga *Haematococcus pluvialis* on the growth performance, sperm concentration, and sperm morphology of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock. A total of 80 individuals were distributed among four treatments containing 0, 50, 100, and 150 mg of astaxanthin/kg of feed, with four replicates per treatment and five fish per experimental unit. After the 45-day experimental period, final biometric measurements were performed to evaluate growth performance. Semen samples were also collected from the broodstock and subjected to sperm concentration and morphology analyses. Growth performance did not show significant differences among treatments. Sperm concentration also did not show statistically significant differences among treatments ($P = 0.101$), although a progressive increase in the mean values was observed with increasing levels of astaxanthin supplementation. Regarding the morphological characteristics, significant differences were observed for the percentage of normal spermatozoa ($P = 0.005$) and the frequency of detached heads ($P = 0.027$), with the treatment containing 100 mg/kg of astaxanthin showing a higher percentage of normal spermatozoa and a lower frequency of detached heads compared with the other treatments. The addition of 100 mg/kg of astaxanthin improves parameters related to the sperm quality of Nile tilapia broodstock, especially sperm morphology, without compromising the growth performance of the animals.

Keywords: Astaxanthin; Nile tilapia; Nutrition; Sperm quality; Reproduction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Quadrantes específicos utilizados nos dois campos da câmara de Neubauer para realizar a contagem dos espermatozóides.	22
Figura 2- Esfregaço tipo gota utilizado na análise de características morfológicas.	23
Figura 3 - Morfologia de espermatozoides de peixes utilizados para análise de características morfológicas.	24
Figura 4 - Gráfico da concentração espermática dos reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.	28
Figura 5 - Gráfico da porcentagem de espermatozoides normais de reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.	30
Figura 6 - Gráfico da porcentagem de espermatozoides com cabeça solta de reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes utilizados nas rações experimentais.	17
Tabela 2 - Composição nutricional das rações experimentais.	18
Tabela 3 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água registrados durante o período experimental.	20
Tabela 4 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) do desempenho zootécnico de machos reprodutores de tilápia do Nilo, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.	25
Tabela 5 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da concentração espermática de reprodutores de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.	27
Tabela 6 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das características morfológicas dos espermatozoides de reprodutores de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1 FORMULAÇÃO DA RAÇÃO EXPERIMENTAL	17
3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	19
3.3 METODOLOGIA DE ANÁLISES ESPERMÁTICAS	21
3.3.1 Análise de concentração espermática	21
3.3.1 Análise de características morfológicas espermática	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	25
5 CONCLUSÃO	32
6 REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Os carotenoides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza. A astaxantina se destaca como um dos mais potentes, pois sua ação antioxidante é superior aos de outros carotenoides e vitaminas. A astaxantina é produzida principalmente por microalgas como a *Haematococcus pluvialis*, e desempenha um papel crucial em processos fisiológicos no organismos (QIANG et al., 2022). Pelo fato de alguns animais, como por exemplo os peixes, não serem capazes de sintetizar a astaxantina, ela deve ser fornecida na dieta desses organismos (PATTANAIK et al., 2021). A utilização da astaxantina na formulação de rações, influencia tanto a pigmentação dos organismos, quanto funções metabólicas e fisiológicas, exercendo influência positiva no crescimento, na reprodução, na atividade antioxidante e na melhora do sistema imunológico (STACHOWIAK; SZULC, 2021).

Pelo fato da astaxantina ter uma forte ação antioxidante, ela é muito utilizada para auxiliar na diminuição do estresse oxidativo, através da eliminação de radicais livres (QIANG et al., 2022). Em estudos experimentais com roedores, o estresse oxidativo é um dos principais fatores responsáveis pela redução da qualidade espermática, que afeta diretamente a motilidade, viabilidade e integridade estrutural dos espermatozoides. Portanto a astaxantina pode atuar melhorando parâmetros espermáticos, através da proteção contra danos oxidativos (WANG et al., 2025).

Já em organismos aquáticos, evidências indicam que a suplementação com carotenoides, em especial a astaxantina, pode melhorar a qualidade do sêmen. Em estudo com o peixe ornamental kinguio (*Carassius auratus*), a inclusão de astaxantina na dieta promoveu um aumento significativo na concentração espermática e qualidade geral do sêmen (TIZKAR et al., 2015). Resultados semelhantes foram observados em outras espécies de peixes, nas quais a suplementação com a astaxantina promoveu aumento do volume seminal, do número total de espermatozoides e uma tendência de melhora da motilidade (DOMÍNGUEZ-CASTANEDO et al., 2015).

A qualidade do sêmen em peixes é um fator que determina o sucesso reprodutivo, sendo avaliada por parâmetros como concentração espermática, motilidade e morfologia espermática, com destaque, no presente estudo, para a

concentração e a morfologia. Alterações nesses parâmetros podem comprometer a fertilização (RURANGWA et al., 2004; BOBE; LABBÉ, 2010).

A concentração espermática está relacionada ao número de espermatozoides que estão presentes em um determinado volume de sêmen, sendo um indicador importante para o potencial reprodutivo dos machos. Em relação a morfologia espermática, refere-se às características estruturais dos espermatozoides, analisando integridade da cabeça, da peça intermediária e do flagelo, na qual alterações nessas estruturas podem comprometer a capacidade de fertilização. Dessa forma, esses parâmetros são amplamente utilizados na avaliação da qualidade do sêmen em peixes (RURANGWA et al., 2004; BOBE; LABBÉ, 2010).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem destaque como uma das principais espécies cultivadas mundialmente, sendo de grande importância para a aquicultura global (FAO, 2024). Conforme dados do Anuário Peixe BR (2025), no Brasil, a piscicultura nos últimos anos tem apresentado um grande crescimento, tendo destaque a tilapicultura, que é considerada a principal atividade aquícola do país. A tilápia representa a maior parcela da produção dos peixes cultivados nacionalmente, que corresponde a aproximadamente 68,36% e com produção de 662.230 toneladas de tilápia no ano de 2024 (PEIXE BR, 2025).

Nesse contexto, torna-se importante investigar os efeitos da utilização de astaxantina na dieta da tilápia do Nilo, especialmente referente à qualidade espermática. Pois o uso desse carotenoide como estratégia nutricional pode ajudar a melhorar os parâmetros reprodutivos, como a concentração espermática e as características morfológicas dos espermatozoides, por meio da redução do estresse oxidativo. Assim, pesquisas nesse campo são essenciais para expandir o conhecimento científico e apoiar o desenvolvimento de práticas nutricionais mais eficazes na aquicultura, com o objetivo de melhorar a reprodução e a produtividade nos sistemas de cultivo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos da suplementação de astaxantina na qualidade espermática da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formular dietas experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de astaxantina;
- Analisar a concentração espermática dos peixes submetidos às dietas experimentais;
- Analisar as características morfológicas dos espermatozoides, considerando alterações estruturais;
- Avaliar o desempenho zootécnico dos reprodutores submetidos às dietas experimentais;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 FORMULAÇÃO DA RAÇÃO EXPERIMENTAL

A astaxantina utilizada na formulação das dietas foi de origem comercial da FormuLab®, extraída da microalga *Haematococcus pluvialis*. Foram elaboradas 4 tipos de rações isoprotéicas e isoenergéticas, utilizando o software SuperCrac®, conforme as exigências nutricionais recomendadas para juvenis de tilápia do Nilo, de acordo com Furuya et al (2010), contendo diferentes níveis de inclusão desse carotenoide: 0 mg de astaxantina/kg de ração (controle); 50 mg/kg de astaxantina de ração; 100 mg/kg de astaxantina de ração e 150 mg/kg de astaxantina de ração (Tabela 1).

Tabela 1 - Ingredientes utilizados nas rações experimentais.

Ingredientes (%)	0 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg
Farelo de Soja (44%)	63,19	63,19	63,19	63,19
Milho moído (7,9%)	32,59	32,59	32,59	32,59
Fosfato Bicálcico	1,39	1,39	1,39	1,39
Óleo de Soja	0,8	0,8	0,8	0,8
Carboximetilcelulose	0,5	0,5	0,5	0,5
Premix Peixes	0,4	0,4	0,4	0,4
Calcário	0,37	0,37	0,37	0,37
DL-Metionina	0,27	0,27	0,27	0,27
L-Treonina	0,22	0,22	0,22	0,22
Sal	0,22	0,22	0,22	0,22
Astaxantina	0	0,005	0,01	0,015
Inerte (areia lavada)	0,02	0,015	0,01	0,005
BHT (antioxidante)	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100

Premix: vitamina A (2.500.000 UI), vitamina D₃ (60.000 UI), vitamina E (37.500 UI), vitamina K₃ (3.750 mg), vitamina B₁ (4.000 mg), vitamina B₂ (4.000 mg), vitamina B₅ (12 g), vitamina B₆ (4.000 mg), vitamina B₁₂ (4.000 µg), vitamina C (50 g), ácido fólico

(1.250 mg), niacina (22,5 g), biotina (15 mg), ferro (15 g), zinco (12,5 g), manganês (12,5 g), cobre (2.500 mg), iodo (375 mg), cobalto (125 mg) e selênio (85,7 mg).

Tabela 2 - Composição nutricional das rações experimentais.

Composição nutricional	0 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg
Proteína bruta calculada (%)	30,62	30,62	30,62	30,62
Proteína digestível (%)	28,00	28,00	28,00	28,00
Lisina digestível (%)	1,91	1,91	1,91	1,91
Metionina + Cistina digestível (%)	0,96	0,96	0,96	0,96
Treonina digestível (%)	1,23	1,23	1,23	1,23
Energia digestível (kcal/kg)	3200	3200	3200	3200
Fósforo disponível (%)	0,40	0,40	0,40	0,40
Cálcio (%)	0,70	0,70	0,70	0,70
Sódio (%)	0,15	0,15	0,15	0,15
Extrato etéreo (%)	3,27	3,27	3,27	3,27
Fibra bruta (%)	4,05	4,05	4,05	4,05
Umidade (%)	7,30	6,97	6,94	7,58
Cinzas (%)	5,54	5,54	5,54	5,54

Fonte: SuperCrac®, 2024

A preparação e produção das rações foram realizadas no Laboratório de Sistemas de Produção Aquícolas (LAPAQ) na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os ingredientes foram primeiramente moídos em um moinho tipo faca e, posteriormente, peneirados em uma malha de 1 mm. Após essa fase, os

componentes foram misturados e homogeneizados com a adição de água aquecida a 65 °C, até que se alcançasse uma massa uniforme e consistente. Em seguida, a massa foi peletizada em um moedor de carne e, posteriormente, submetida à secagem em uma estufa de circulação forçada a 55 °C por 24 horas. Após a secagem, os pellets foram moldados para um diâmetro em que se adequasse ao tamanho da boca e a fase de desenvolvimento dos peixes. As rações foram armazenadas em recipientes fechados, onde foram mantidas durante todo o experimento em condições de congelamento a -20 °C.

3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Os dados utilizados neste estudo são provenientes de um experimento previamente conduzido no Laboratório de Sistemas de Produção Aquícolas (LAPAQ). No presente trabalho, apenas as amostras espermáticas foram submetidas à análise. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas éticas vigentes, estando devidamente autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), conforme o protocolo nº 5386030624 (ID 001982).

O experimento teve duração de 45 dias, e foram utilizados 80 machos de tilápias do Nilo de linhagem GIFT, com peso inicial médio de $32,42 \pm 0,51$ g e comprimento médio de $11 \pm 0,13$ cm. Os peixes foram distribuídos em 16 caixas d'água, cada uma com volume útil de 220 L e em sistema de recirculação de água (RAS), contendo filtragem biológica e ultravioleta.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos que correspondiam aos níveis de inclusão de astaxantina na dieta (0, 50, 100 e 150 mg/kg), com quatro repetições por tratamento, totalizando 16 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por uma caixa contendo 5 peixes.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, uma às 10:00 horas e a outra às 16:00 horas, durante o período experimental, com fornecimento de ração correspondente a 2% da biomassa, com ajustes realizados a cada 15 dias através da realização de biometria.

Os parâmetros de qualidade da água envolvendo temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente usando uma sonda multiparâmetro digital

(YSI™ Modelo 550 A, USA). Semanalmente foi realizado o monitoramento da amônia não ionizada, nitrito e nitrato, seguindo procedimentos padrão (Baird et al. 2017). Os parâmetros referentes à qualidade da água registrados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água registrados durante o período experimental.

Parâmetro	Valor médio
Temperatura (°C)	29,6 $\pm$ 0,11
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	6,6 $\pm$ 0,16
pH	7,9 $\pm$ 0,12
Amônia (mg L ⁻¹)	0,014 $\pm$ 0
Nitrito (mg L ⁻¹)	0,25 $\pm$ 0
Nitrato (mg L ⁻¹)	5 $\pm$ 0

Esses valores indicam que as condições ambientais permaneceram adequadas ao cultivo de tilápias durante todo o experimento, conforme El-Sayed (2006), indicando que a qualidade da água não foi um fator limitante nos machos reprodutores durante o experimento.

Após 45 dias de experimento, os peixes das 16 caixas foram anestesiados com a utilização de Tricaína metano sulfonato (MS-222, Sigma-Aldrich) com dosagem de 150mg/L de (ARAÚJO et al. 2018), garantido menor estresse no manejo dos animais, além de respeitar os princípios de senciência e bem-estar descritos na literatura científica (PEDRAZZANI et al., 2007).

Quando os peixes estavam anestesiados, foi realizada a coleta do sêmen. Foi feita uma secagem cuidadosa com papel toalha na região urogenital dos peixes no momento da coleta, para evitar a contaminação com qualquer substância líquida presente, como por exemplo, muco, urina, fezes, entre outros. Após a secagem foi realizada a coleta seminal com o auxílio de uma pipeta de 1 mL, colocando as amostras em tubos Eppendorfs.

Para cada unidade experimental, as amostras dos sêmens dos animais foram homogeneizadas, resultando em um Eppendorf por caixa, totalizando 16 amostras. Uma alíquota de 4 μL de sêmen de cada caixa foi fixada em 996 μL de solução salina formal tamponada, conforme metodologia descrita por Hancock (1957), com adaptações.

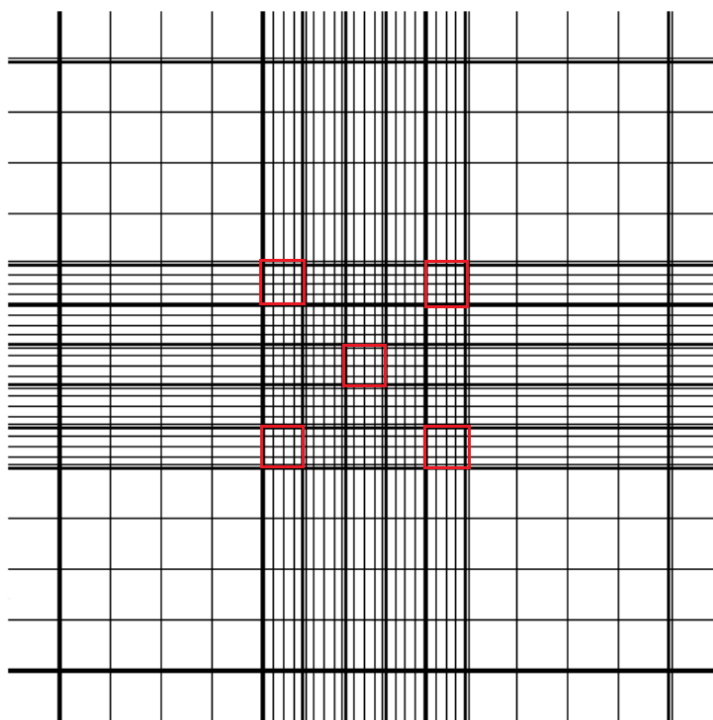
A partir dos dados de peso, comprimento e consumo da ração, foram avaliados os indicadores de desempenho zootécnico dos peixes submetidos às rações experimentais. Para isso, foram considerados os seguintes parâmetros: ganho de peso (GP), obtido pela diferença entre o peso final e o peso inicial; conversão alimentar aparente (CAA), calculada pela divisão entre o consumo de ração e o ganho de peso; e sobrevivência (SOB), expressa em porcentagem, calculada pela divisão entre o número final e o número inicial de peixes, multiplicada por 100.

3.3 METODOLOGIA DE ANÁLISES ESPERMÁTICAS

3.3.1 Análise de concentração espermática

A análise realizada para determinar a concentração espermática, foi feita através da utilização da amostra previamente fixada e diluída na proporção de 1:250 (conforme descrito no item 3.3). Foi realizada uma homogeneização da amostra, em um homogeneizador, após isso com auxílio de uma pipeta, foi transferida 10 μL por capilaridade em cada campo na câmara de Neubauer, sendo necessário aguardar a decantação dos espermatozoides para posterior contagem. A contagem foi realizada em microscópio óptico, utilizando objetiva de 40x, considerando os campos e quadrantes específicos da câmara (Figura 1).

Figura 1- Quadrantes específicos utilizados nos dois campos da câmara de Neubauer para realizar a contagem dos espermatozoides.



Fonte: Autor, 2026.

A concentração espermática foi determinada com base no número de espermatozoides contados nos quadrantes da câmara, levando-se em consideração o fator de diluição da amostra e a profundidade da câmara, sendo os resultados expressos em espermatozoides por mililitro (SPZ mL⁻¹), conforme metodologia baseada no método de J. L. Hancock (1957), com adaptações conforme descrito por Sanches (2013).

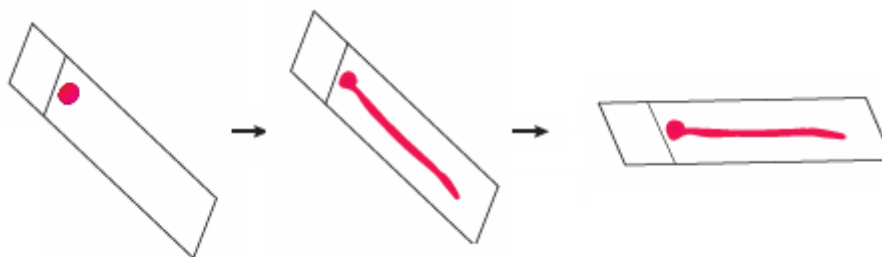
O cálculo foi realizado por meio da expressão: $(\Sigma \text{SPZ}/\text{q.c.}) \times (25 \times \text{diluição} \times 1000/\text{profundidade da câmara})$, considerando profundidade de 0,10 mm e diluição de 1:250, onde ΣSPZ corresponde ao número total de espermatozoides contados e q.c. ao número de quadrantes analisados.

3.3.2 Análise de características morfológicas espermáticas

Na análise das características morfológicas, utilizou-se as mesmas amostras citadas no tópico 3.3. Foi colocada 20 µl da amostra em uma lâmina microscópica e posteriormente foi adicionado 5 µl do corante rosa de bengala, para garantir a

coloração das estruturas do espermatozoides. Após isso foi realizado um esfregaço do tipo gota (Figura 2), evitando maiores danos às estruturas dos espermatozoides.

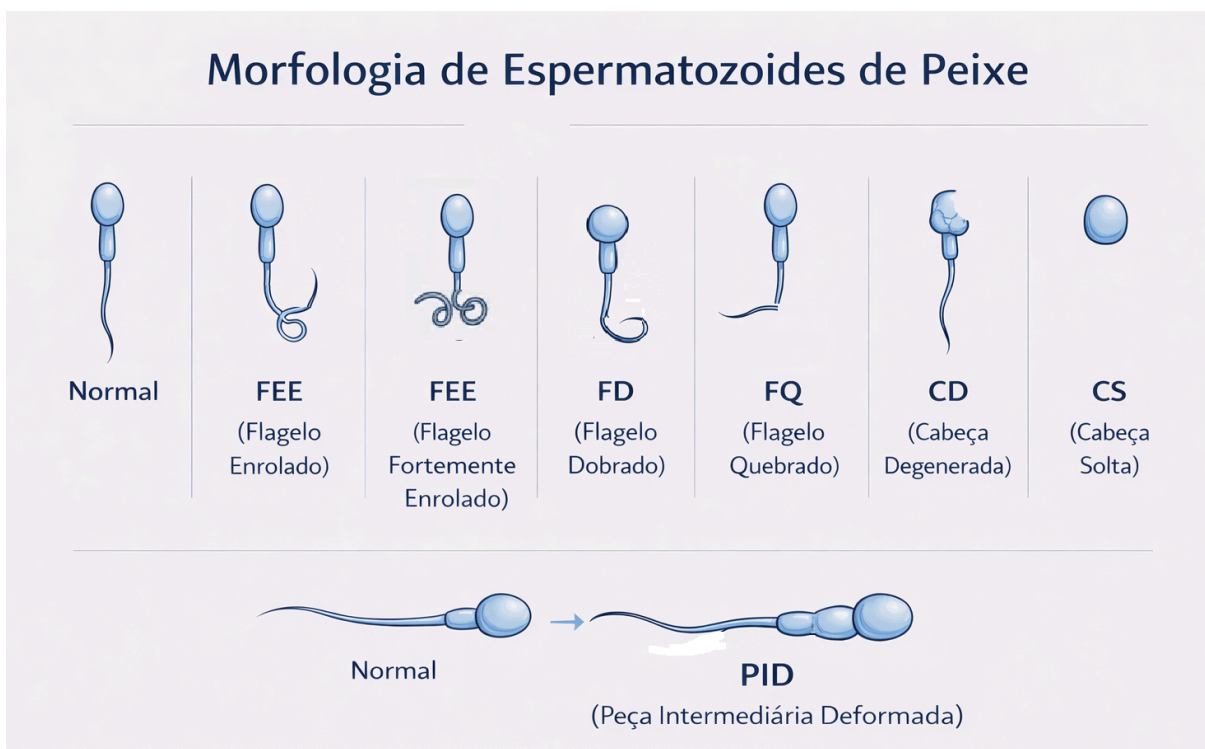
Figura 2- Esfregaço tipo gota utilizado na análise de características morfológicas.



Fonte: Sanches, 2013.

Após a secagem das lâminas que foram submetidas ao esfregaço, elas foram colocadas no microscópio óptico, e com o auxílio da lente objetiva de 100x, foi possível avaliar e classificar os espermatozoides pelas suas características morfológicas (Figura 3), identificando alterações como cabeça solta, cabeça degenerada, peça intermediária degenerada, flagelo solto, flagelo quebrado, flagelo enrolado ou flagelo altamente enrolado (Miliorini et al., 2011). Para cada amostra, foram avaliados 100 espermatozoides, sendo os resultados expressos em porcentagem de células normais e anormais.

Figura 3 - Morfologia de espermatozoides de peixes utilizados para análise de características morfológicas.



Fonte: Autor, 2025.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi utilizado o software Jamovi, onde foi verificada a adequação dos dados espermáticos por meio dos testes de normalidade (Shapiro–Wilk) e homogeneidade de variâncias (Levene). Os dados referentes ao desempenho zootécnico e concentração espermática foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA de um fator). Os dados referente às características morfológicas foram submetidos à ANOVA de um fator utilizando a correção de Welch, quando observadas diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Games-Howell. Em todas as análises realizadas, foi adotado um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

As análises foram realizadas considerando o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

O desempenho zootécnico dos machos reprodutores de tilápia do Nilo não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com diferentes níveis de inclusão de astaxantina ($P > 0,05$). As variáveis avaliadas: peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar aparente e sobrevivência, apresentaram comportamento semelhante entre os grupos experimentais (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) do desempenho zootécnico de machos reprodutores de tilápia do Nilo, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.

Variável	0 mg/kg	50 mg/kg	mg/kg	150 mg/kg	Valor de P
Peso final (g)	47 $\pm$ 7	49 $\pm$ 7	46 $\pm$ 6	46 $\pm$ 3	0,54
Comprimento final (cm)	13 $\pm$ 0,8	14 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	13,5 $\pm$ 0,8	0,41
Ganho de peso (g)	14 $\pm$ 6	16 $\pm$ 3	15 $\pm$ 3	14 $\pm$ 3	0,44
Conversão alimentar aparente	1,17 $\pm$ 0,05	1,10 $\pm$ 0,14	1,09 $\pm$ 0,07	1,21 $\pm$ 0,15	0,42
Sobrevivência (%)	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	92 $\pm$ 10	96 $\pm$ 8	0,24

Nota: Valores expressos em média $\pm$ desvio-padrão. Os valores de P referem-se à análise de variância (ANOVA de um fator). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$).

A ausência de diferenças entre todos os tratamentos, sugere que os níveis de inclusão de astaxantina não influenciaram o crescimento, o aproveitamento alimentar e a sobrevivência dos reprodutores. Esse resultado se mostra relevante pois, a inclusão da astaxantina pode favorecer parâmetros relacionados à qualidade espermática sem comprometer o crescimento ou a eficiência alimentar dos animais. Resultados semelhantes foram observados por Panase et al. (2024), que não

verificaram efeitos significativos sobre o crescimento de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentados com astaxantina derivada de *Paracoccus carotinifaciens* sob estresse térmico no inverno. Conforme estudo de Campos-Sánchez & Esteban (2024), também não foi observado alteração do crescimento de Dourada (*Sparus aurata*) suplementados com astaxantina.

De forma semelhante, foi relatado por Meng et al. (2024), que a suplementação de 25 a 75 mg/kg de astaxantina promoveu melhora na capacidade antioxidante e na resposta imunológica de Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), embora não tenha sido observado diferença no crescimento, níveis excessivos de suplementação referente a 125 mg/kg ocasionaram efeitos negativos sobre o desempenho de crescimento.

Diferentemente dos resultados apresentados no experimento, alguns trabalhos observaram efeitos positivos da astaxantina na suplementação em algumas espécies. Em tilápias vermelhas híbridas (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*), Eldessouki et al. (2024), relataram uma melhora do crescimento e na eficiência alimentar através da suplementação de astaxantina proveniente da microalga *Haematococcus pluvialis* durante um período de 60 dias, além de indicarem a faixa de 100 a 150 mg/kg como mais adequada para a espécie.

Já em estudos de Qiang et al. (2022), foi possível observar que fêmeas de *Oreochromis niloticus* que foram suplementadas com astaxantina por 60 dias, tiveram uma melhora no desempenho zootécnico em suplementações de 100 e 150 mg/kg, apresentando um aumento no ganho de peso e da taxa de crescimento específico, além de apresentar uma redução da taxa de conversão alimentar. Em um estudo envolvendo Achigã (*Micropterus salmoides*), realizado por Zhang et al. (2024), foi possível observar que a inclusão de 100 mg/kg de astaxantina na dieta, também promoveu melhorias significativas no ganho de peso, na taxa de crescimento específico e na conversão alimentar.

4.3 QUALIDADE ESPERMÁTICA

A concentração espermática não apresentou efeito significativo entre os tratamentos ($P = 0,101$). Embora não tenha apresentado diferença estatisticamente significativas, foi possível observar um aumento progressivo da concentração espermática com a adição de níveis de astaxantina na dieta, onde ocorreu a maior

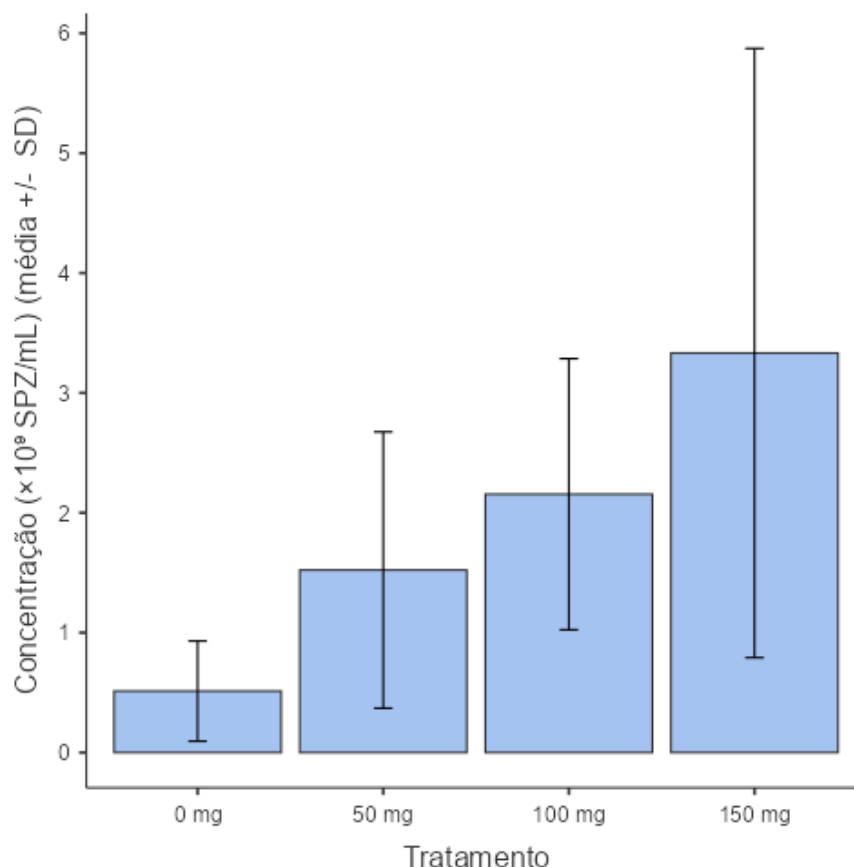
média registrada no tratamento contendo 150 mg/kg de astaxantina ($3,33 \pm 2,54 \times 10^9$ SPZ/mL), enquanto o menor valor foi observado no tratamento sem suplementação ($0,51 \pm 0,42 \times 10^9$ SPZ/mL) (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da concentração espermática de reprodutores de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.

Astaxantina (mg/kg)	Concentração espermática ($\times 10^9$ SPZ/mL)
0	$0,51 \pm 0,42$
50	$1,52 \pm 1,15$
100	$2,03 \pm 0,72$
150	$3,33 \pm 2,54$
Valor de <i>P</i>	0,101

Fonte: autor, 2026.

Figura 4 - Gráfico da concentração espermática dos reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.



Fonte: Autor, 2026.

Referente às características morfológicas após a realização da estatística, foi possível identificar diferenças significativas para a porcentagem de espermatozoides normais ($P = 0,005$) e cabeça solta ($P = 0,027$). Em relação às outras características morfológicas avaliadas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Tabela 6).

Por fim as características que apresentaram diferenças significativas, tiveram seus grupos comparados entre si, e foi possível observar que na porcentagem de espermatozoides normais, o tratamento contendo 100 mg/kg de astaxantina apresentou valores superiores aos observados nos tratamentos de 0 mg ($P = 0,003$) e 150 mg ($P = 0,021$), não diferindo do tratamento de 50 mg. Já em relação a característica de cabeça solta, foi possível observar diferença apenas entre os

tratamentos 0 mg e 100 mg ($P = 0,036$), sendo que a menor frequência foi registrada no tratamento contendo 100 mg/kg de astaxantina.

Tabela 6 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das características morfológicas dos espermatozoides de reprodutores de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de astaxantina.

Variável (%)	0 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg	Valor de P
Normal	66,0 $\pm$ 1,6 ^b	69,3 $\pm$ 2,2 ^{ab}	74,5 $\pm$ 2,1 ^a	68,5 $\pm$ 1,9 ^b	0,005
FE	7,0 $\pm$ 0,8	6,8 $\pm$ 1,0	4,8 $\pm$ 1,3	8,3 $\pm$ 1,7	0,075
FFE	5,3 $\pm$ 1,0	3,0 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 2,1	3,5 $\pm$ 1,3	0,057
FD	4,0 $\pm$ 1,4	7,3 $\pm$ 1,3	6,3 $\pm$ 1,7	6,0 $\pm$ 1,8	0,09
FQ	3,0 $\pm$ 1,6	3,3 $\pm$ 0,5	2,8 $\pm$ 1,0	3,3 $\pm$ 1,0	0,854
CS	11,3 $\pm$ 1,3 ^b	8,0 $\pm$ 1,4 ^{ab}	6,8 $\pm$ 1,9 ^a	7,5 $\pm$ 2,6 ^{ab}	0,027
PID	3,3 $\pm$ 1,3	2,8 $\pm$ 0,5	2,8 $\pm$ 1,0	3,0 $\pm$ 0,8	0,89

Nota: FE: flagelo enrolado; FFE: flagelo fortemente enrolado; FD: flagelo dobrado; FQ: flagelo quebrado; CS: cabeça solta; PID: peça intermediária deformada. Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Games–Howell ($P \leq 0,05$).

Figura 5 - Gráfico da porcentagem de espermatozoides normais de reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.

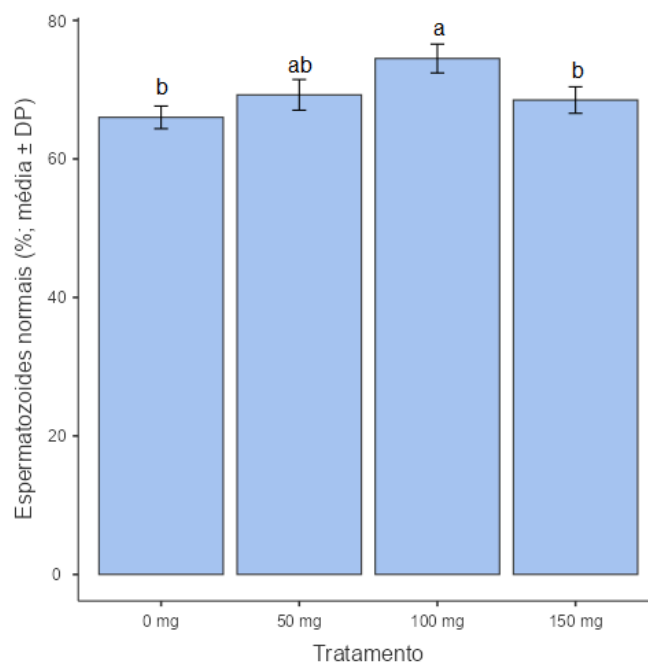
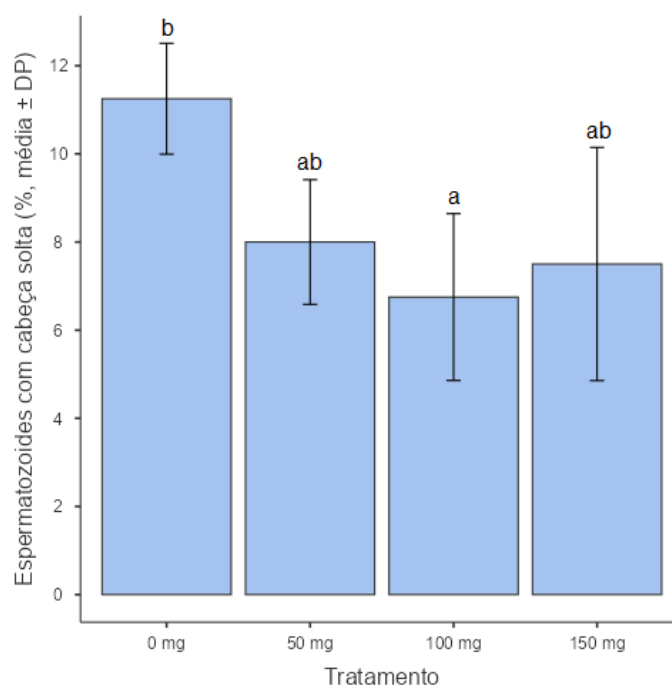


Figura 6 - Gráfico da porcentagem de espermatozoides com cabeça solta de reprodutores de tilápia do Nilo submetidos a diferentes níveis de astaxantina na dieta.



A inclusão de astaxantina na dieta dos machos reprodutores de tilápia do Nilo teve influência positiva na qualidade espermática dos peixes analisados. Apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos referente a concentração, foi possível observar que a média da concentração aumentou com a elevação dos níveis de astaxantina. Já nas características morfológicas foi possível identificar diferenças significativas relevantes, como por exemplo, na variável de espermatozoides normais e na ocorrência de cabeça solta. Os resultados sugeriram que a inclusão desse carotenoide pode contribuir para a melhoria da qualidade reprodutiva dos machos.

Levando em conta que a qualidade espermática é um dos principais fatores associados ao sucesso reprodutivo em peixes (BOBE; LABBÉ, 2010), dessa forma, alterações positivas em parâmetros como concentração e morfologia espermática, que refletem na capacidade de produção e na integridade estrutural dos gametas (Rurangwa et al., 2004; Cabrita et al., 2009), vão proporcionar uma maior eficiência reprodutiva.

O resultado observado de aumento progressivo da concentração espermática nos diferentes tratamentos com a elevação dos níveis de astaxantina, é semelhante aos resultados descritos na literatura para outras espécies aquáticas. Em estudo de Domínguez-Castanedo et al. (2015), relataram aumento na concentração espermática em Tetra olho-de-fogo (*Moenkhausia sanctaefilomenae*) alimentados com dietas contendo astaxantina, além disso também observaram um maior aumento do volume seminal. Segundo Domínguez-Castanedo et al. (2015), os efeitos podem estar relacionados à redução dos danos oxidativos em membranas celulares e tecidos testiculares, favorecendo os processos envolvidos na espermatogênese. Resultados semelhantes também foram observados por Tizkar et al. (2015) em quinguio (*Carassius auratus*), onde a suplementação com astaxantina garantiu melhorias na qualidade seminal, incluindo aumento da concentração espermática.

Em relação aos resultados das características morfológicas, foram observadas diferenças significativas para a porcentagem de espermatozoides normais e para a frequência de cabeça solta. O tratamento contendo 100 mg de astaxantina apresentou maior porcentagem de espermatozoides normais quando comparado aos tratamentos de 0 e 150 mg, sugerindo que níveis mais elevados podem não proporcionar efeitos positivos na qualidade espermática, indicando

possível dose ótima da suplementação. Resultados semelhantes quanto aos efeitos de níveis elevados de suplementação foram descritos por Meng et al. (2024), onde observaram efeito negativo no desempenho zootécnico de Truta-arco-íris. Além disso, a inclusão de 100mg de astaxantina apresentou uma menor frequência de cabeça solta em relação ao tratamento de 0 mg.

A elevada ação antioxidante da astaxantina pode auxiliar na proteção das membranas e demais estruturas espermáticas durante a espermatogênese, favorecendo a formação de gametas morfológicamente normais (QIANG et al., 2022; WANG et al., 2025).

5 CONCLUSÃO

A adição de astaxantina na ração ofertada aos machos reprodutores de tilápia do Nilo, não influenciou significativamente o desempenho zootécnico dos animais, pois o peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar aparente e sobrevivência não apresentaram diferenças estatisticamente relevantes entre os tratamentos ($P > 0,05$).

Já em relação a qualidade espermática, teve influência principalmente nas características morfológicas dos espermatozóides. Embora tenha sido observado um aumento progressivo da média da concentração espermática com a elevação dos níveis de suplementação, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($P = 0,101$).

Em relação às características morfológicas a suplementação com 100 mg/kg proporcionou os melhores resultados, com maiores presenças de espermatozoides normais, e menor quantidade com cabeça solta.

Tendo em vista esses resultados, a inclusão de 100 mg/kg de astaxantina possui um efeito potencial de melhora dos parâmetros espermáticos de tilápias do Nilo, especialmente em relação à morfologia dos espermatozoides, contribuindo de certa forma para o aumento da eficiência reprodutiva da espécie.

6 REFERÊNCIAS

- BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; RICE, E. W. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2017.
- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, v. 165, n. 3, p. 535–548, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>.
- CAMPOS-SÁNCHEZ, J. C.; ESTEBAN, M. A. Effects of dietary astaxanthin on immune status and lipid metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish and Shellfish Immunology*, v. 151, p. 109731, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.109731>.
- DOMÍNGUEZ-CASTANEDO, O. et al. Effect of dietary astaxanthin supplementation on semen quality in *Moenkhausia sanctaefilomenae*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 43, n. 1, p. 143–150, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3856/vol43-issue1-fulltext-18>.
- ELDESSOUKI, E. A. A. et al. Influence of astaxanthin-enriched *Haematococcus pluvialis* microalgae on the growth efficacy, immune response, antioxidant capacity, proinflammatory cytokines, and tissue histomorphology of hybrid red tilapia. *Aquaculture International*, v. 32, p. 7447–7468, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01524-1>.
- EL-SAYED, A.-F. M. *Tilapia culture*. Wallingford: CABI Publishing, 2006. 277 p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in action*. Rome: FAO, 2024. DOI: <https://doi.org/10.4060/cd0683en>.
- FURUYA, W. M. (ed.). *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. Toledo: GFM Gráfica e Editora, 2010.
- HANCOCK, J. L. The morphology of boar spermatozoa. *Journal of the Royal Microscopical Society*, v. 76, n. 3, p. 84–97, 1957. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1956.tb00443.x>.
- MENG, X. et al. Effects of dietary astaxanthin supplementation on growth performance, antioxidant status, immune response, and intestinal health of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Nutrition*, v. 17, p. 387–396, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.03.010>.
- MILIORINI, A. B.; MURGAS, L. D. S.; ROSA, P. V.; OBERLENDER, G.; PEREIRA, G. J. M.; COSTA, D. V. A morphological classification proposal for curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm damages after cryopreservation. *Aquaculture Research*, v. 42, n. 2, p. 177–187, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02575.x>.

PANASE, P. et al. Impacts of astaxanthin-enriched *Paracoccus carotinifaciens* on growth, immune responses, and reproduction performance of broodstock Nile tilapia during winter season. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 50, p. 1205–1224, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-024-01331-8>.

PATTANAIAK, S. S. et al. Dietary carotenoprotein extracted from shrimp shell waste augments growth, feed utilization, physio-metabolic responses and colouration in Oscar (*Astronotus ocellatus*). *Aquaculture*, v. 534, p. 736303, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736303>.

PEDRAZZANI, A. S.; MOLENTO, C. F. M.; CARNEIRO, P. C. F.; FERNANDES-DE-CASTILHO, M. Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. *Panorama da Aquicultura*, v. 17, n. 102, p. 24–29, jul./ago. 2007.

PEIXE BR. *Anuário Peixe BR da Piscicultura 2025*. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, 2025.

QIANG, J. et al. Role of astaxanthin as a stimulator of ovarian development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, v. 2022, p. 1–10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/1245151>.

SANCHES, E. A. *Procedimentos e rotinas de análises espermáticas*. 2013.

STACHOWIAK, B.; SZULC, P. Astaxanthin for the food industry. *Molecules*, v. 26, n. 9, p. 2666, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26092666>.

TIZKAR, B. et al. Effects of dietary supplementation with astaxanthin and β -carotene on the semen quality of goldfish (*Carassius auratus*). *Theriogenology*, v. 84, p. 1111–1118, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.06.011>.

WANG, J. et al. Astaxanthin alleviates the decline of sperm quality caused by heat stress through oxidative stress regulation. *Life*, v. 15, n. 6, p. 851, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/life15060851>.

ZHANG, J. et al. Effects of dietary astaxanthin on growth performance, immunity, and tissue composition in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Frontiers in Marine Science*, v. 11, p. 1404661, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1404661>.