

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CENTRO DE AQUICULTURA

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**NUTRIÇÃO E REVERSÃO SEXUAL DE TILÁPIA DO NILO:
PARÂMETROS PRODUTIVOS E ESTRUTURA DO FÍGADO**

Ana Laura Borba de Andrade Gayão

Orientador: *Prof. Dr. Dalton José Carneiro*

Tese apresentada ao Centro de Aquicultura da UNESP – Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

JABOTICABAL
São Paulo - Brasil
Fevereiro de 2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dedico

Ao amor da minha vida, Ancilon Júnior, meu companheiro desde sempre, em todos os momentos meu lastro e porto seguro.

Obrigada pelo apoio, auxílio, dedicação, amor, carinho, compreensão, paciência. Sem você ao meu lado, não seria possível percorrermos esse caminho, que não foi nada fácil, mas nos possibilitou crescimento pessoal e uma conquista importante para nossas vidas.

AO ORIENTADOR

“Querem que vos ensine o modo de chegar à ciência verdadeira?

*Aquilo que se sabe saber que se sabe;
aquilo que não se sabe, saber que não se sabe.*

Na verdade é este o saber”

(Confúcio)

Meus sinceros agradecimentos ao meu orientador Prof. Dr. Dalton José Carneiro, exemplo de sabedoria, humildade, bondade e simplicidade.

Agradeço pela oportunidade, confiança, orientação, disposição, atenção, paciência e pelos tão valiosos ensinamentos.

Admiro-o e respeito-o por sua competência, criatividade, responsabilidade e profissionalismo.

A sua orientação, deixando-nos resolver os próprios problemas, indicando com humildade o caminho, me fez acreditar mais em mim mesma, como pesquisadora e professora.

AGRADECIMENTOS

A Deus. Louvo-O pela Vida, pela Luz, pela Força e pela Esperança para seguir meu caminho na busca da evolução material e espiritual.

À minha mãe, Deciles, que me amou desde antes da minha existência, que me deu a vida, que é responsável pela pessoa que sou, pelos meus princípios, minhas conquistas. Você é meu exemplo de fé, amor incondicional e dedicação. A você, mãe, minha eterna gratidão, admiração, carinho, respeito e o maior amor do mundo.

Ao meu pai, Antonio (*in memoriam*), que me proporcionou com o seu trabalho o acesso à instrução, mais do que isso, me ensinou a importância da educação. Foi para mim exemplo de ética, respeito, benevolência e responsabilidade.

Ao meu esposo, Ancilon Júnior, a nossas filhas, Luiza e Laura, e a minha mãe Deciles, por aceitarem mudar a vida por um tempo, me acompanharem e ajudarem nessa experiência. Vocês motivam minha luta, meus princípios, sonhos e objetivos de vida.

Às nossas famílias, que suportaram com compreensão a nossa ausência nos anos que passamos longe de casa. Em especial, pela torcida e orações, minhas tias Dulce e Dionise, meus sogros Ancilon e Eudália.

Ao meu orientador do Mestrado na FNOZ, Dr. Flávio Baccari Júnior. Você, que me acolheu como um pai quando me afastei de casa na juventude, plantou em mim a semente do interesse pelo conhecimento, com humildade. Você é a pessoa mais sábia e bondosa que já conheci, tem um caráter e ética invejáveis. Eu o admiro e lhe tenho grande gratidão e carinho, para sempre.

A todos os professores e pesquisadores do Centro de Aqüicultura. Em especial, aos professores e amigos: Dr. Antonio Celso Pezzato, Dr. Dalton José Carneiro, Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati, Dr. Euclides Braga Malheiros, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, Dra. Maria Célia Portella, Dra. Margarida Maria Barros, Dra. Maria Inez Espagnoli Geraldo Martins, Dra. Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein. A vocês, minha eterna gratidão pelo oferecimento de seus conhecimentos e experiências. Admiro-os pelo exemplo de sabedoria, competência e humildade, e por não se aterem somente a ensinar, ultrapassando os limites dos objetivos profissionais, tornando-se especiais para nós.

A Dra. Margarida Maria Barros, que acreditou em mim, desde o primeiro instante. A você, minha gratidão pelo apreço, ensinamentos, atenção, companheirismo, auxílio e orientação, sugestões e correções deste trabalho. Admiro-a pela linda pessoa que você é, e pelo exemplo de profissionalismo e competência. “Quando crescer, quero ser igual a você”.

A Dra. Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein, responsável pelo Laboratório de Filapicultura, por tornar possível o experimento nesse laboratório. Muito mais do que isso, você acreditou em nós, nos ofereceu seu ombro amigo e suas palavras sempre positivas e encorajadoras. Você estará para sempre em nossos corações.

A todos os servidores do Centro de Aqüicultura, pela acolhida carinhosa, pela atenção, apoio e amizade dispensados a mim e à minha família. Em especial, aos servidores técnicos: Márcio Roberto Reche (Perereca), Valdecir Fernandes de Lima, Mauro Marcelino, Idair Maurício Marcelino, Sílvia Regina Ligeiro de Laurentiz, Fabiana Pilarsky, Donizete Sant’Anna, Suerli Aparecida Alves Lima, Eliana Batista Cardoso, não somente pelo apoio e contribuição indispensáveis e importantíssimos nos experimentos, mas também pela amizade. (“A gente não faz amigos, reconhece-os” – Vinicius de Moraes).

A todos os colegas do Centro de Aqüicultura, com os quais convivemos na nossa jornada. Especialmente aos colegas e amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, pelo companheirismo, apoio e auxílio valioso, nos experimentos, Rodrigo Takata, Camilo Alberto Prieto Mojica, Gisele Cristina Fávero, Luis Otávio Martini Del Guerra, Gustavo Henrique Squassoni, Natália de Jesus Leitão, Luis Fernando Bellam Fedrizzi, Joaquim Macamura Neto, Olivia Cristina C. Menossi, Thiago Mendes de Freitas, Ana Paula S. Teixeira, Camila Antonio, Luiz Alberto Magalhães Dourado, Márcia Regina Stech. Cada um de vocês ensinou-nos algo, permitindo-nos acreditar na amizade desinteressada e na cumplicidade em momentos difíceis. (*“Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas”* – Antoine de Saint Exupéry).

À empresa Piscicultura Aquabel, especialmente aos responsáveis e funcionários da Fazenda Belmonte, pelos alevinos cultivados e doados para a execução dos experimentos.

Aos servidores técnicos da Fábrica de Ração do Departamento de Zootecnia da FCAV, Sandra Mara Curtarelli, Hélio Severo Júnior e Osvaldo Alves Barbosa, pela contribuição na elaboração das dietas dos peixes.

Ao Dr. Claudinei da Cruz pela amizade, apoio, orientação e execução das análises histológicas desse trabalho.

Ao Oficial de Administração Universitária da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção da FCAV, Antonio Carlos Komem, pela amizade e contribuição a esse trabalho.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Veralice Cappato, pela amizade, atenção, apoio e favores mil prestados a mim.

Às Secretárias da Administração do Centro de Aqüicultura, Fátima Aparecida Barbieri Braga e Mônica Maria Travaini, pela amizade e atenção a nós dispensadas sempre.

Aos membros da Banca Examinadora, pela disponibilidade, atenção e cuidado nas valiosas sugestões apresentadas à Tese: Dr. Claudinei da Cruz, Dra. Margarida Maria Barros, Dr. Rodrigo Roubach, Dra. Rosângela Kiyoko Gomori.

A todos os amigos com os quais convivemos em Jaboticabal e que tornaram os anos vividos nessa acolhedora cidade tão mais alegres, para nossa família. Especialmente João e Mirtes, Liziane e Roberto e família, Lucélia, Maria, Adriana e família, Sílvia e família, Alessandra e família, Mariza e família, Ângela e família, Maria de Fátima, irmã Nilce, todos do Colégio Santo André, e tantas outras pessoas únicas, na acolhedora Jaboticabal.

À Escola Agrotécnica Federal Antonio José Teixeira, nas pessoas daqueles que contribuíram e/ou apoiaram nosso afastamento para realização do doutorado. Especialmente aos amigos que sei que torceram por nosso sucesso.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização dessa Tese.

Homenagem póstuma a Dona Ana Pereira da Costa, servidora do Centro de Aqüicultura, que sempre tinha um sorriso e uma palavra encorajadora a nos oferecer.

Você é uma pessoa iluminada e com certeza está em um lindo lugar agora, na companhia dos anjos, descansando, aprendendo e se preparando...

AOS ANIMAIS

(Foram sempre minha paixão)

“Chegará o dia em que o Homem conhecerá o íntimo de um animal. Nesse dia, um crime cometido contra um animal, será considerado um crime contra a humanidade”

(Leonardo Da Vinci)

“Vida é valor absoluto. Não existe vida menor ou maior, inferior ou superior. Enganam-se quem mata ou subjuga um animal por julgá-lo um ser inferior. Diante da consciência que abriga a essência da vida, o crime é o mesmo”

(Olympia Salete)

Agradeço às tilápias que serviram de material biológico para essa pesquisa, por se submeterem ao manejo e morrerem em prol do nosso conhecimento e crescimento profissionais.

Agradeço também aos meus cães Barbie, Bono e Boris, sempre deitados ao meu lado dias e noites insones, fazendo-me companhia enquanto escrevia esse trabalho. Felizes são as pessoas que reconhecem a amizade desinteressada e o amor incondicional de um cão.

SUMÁRIO

	Página
Resumo geral.....	1
Abstract.....	2
Introdução geral	3
Capítulo 1. Considerações iniciais.....	4
 Capítulo 2. REVERSÃO SEXUAL E ALEVINAGEM DE TILÁPIA DO NILO: DESEMPENHO PRODUTIVO, EFETIVIDADE DA REVERSÃO E HISTOLOGIA DE FÍGADO	
Resumo	13
Abstract	14
Introdução	15
Material e Métodos	17
Resultados e Discussão	21
Conclusões	31
Referências	32
 Tabela 1. Valores médios de parâmetros físico-químicos da água durante o experimento.....	21
Tabela 2. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho e sobrevivência de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo 0, 30 e 60 mgMT.kg ⁻¹ de 17- α - metiltestosterona durante a reversão sexual (30 dias) e alevinagem (31 a 60 dias).....	23
Tabela 3. Valores de F e médias de proporção de machos de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo 0, 30 e 60 mgMT.kg ⁻¹	26
Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo três doses de 17- α -metiltestosterona na dieta.....	30

CAPÍTULO 3. NÍVEIS DE PROTEÍNA BRUTA EM DIETAS PRÁTICAS PARA ALEVINAGEM E RECRIA DE TILÁPIAS DO NILO SUBMETIDAS OU NÃO À REVERSÃO SEXUAL: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO E ESTRUTURA DO FÍGADO.

Resumo	35
Abstract	36
Introdução	37
Material e Métodos	38
Resultados e Discussão	44
Conclusões	54
Referências	55
Tabela 1. Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais..	42
Tabela 2. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o experimento.....	44
Tabela 3. Valores de F e médias de peso, comprimento e sobrevivência de tilápia do Nilo revertidas ou não revertidas e alimentadas com dieta comercial durante 35 dias de alevinagem.....	46
Tabela 4. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho de alevinos de tilápia do Nilo revertidos ou não revertidos, alimentados com dietas práticas contendo níveis de proteína bruta durante 70 dias de recria (dos 36 aos 105 dias de idade).....	49
Tabela 5. Médias de comprimento (cm) de alevinos de tilápia do Nilo revertidos ou não revertidos, alimentados com dietas práticas contendo níveis de proteína bruta após 70 dias de recria.....	50
Tabela 6. Valores de F e médias de proporção de machos de lotes de alevinos de tilápia do Nilo, submetidos ou não à reversão sexual.....	51
Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo não revertidas e alimentadas com dietas com níveis de proteína bruta.....	52
Figura 2. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo revertidas e alimentadas com dietas com níveis de proteína bruta.....	53

CAPÍTULO 4. DESEMPENHO E HISTOLOGIA HEPÁTICA DE TILÁPIAS DO NILO DE LOTES SEXUALMENTE REVERTIDOS OU NÃO CULTIVADOS EM TANQUES-REDE COM DIETAS CONTENDO DOIS TEORES PROTEÍCOS

Resumo	58
Abstract	59
Introdução	60
Material e Métodos	61
Resultados e Discussão	66
Conclusões	78
Referências	79

Tabela 1. Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais..	64
Tabela 2. Valores médios de parâmetros físico-químicos da água durante o experimento.....	67
Tabela 3. Valores de F para parâmetros de desempenho de tilápias do Nilo revertidas ou não, cultivadas em tanques-rede por 60 dias e alimentadas com dietas com dois níveis de proteína.....	69
Tabela 4. Médias de peso (g) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.....	70
Tabela 5. Médias de ganho de peso (g) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.....	70
Tabela 6. Médias de conversão alimentar de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.....	70
Tabela 7. Médias de comprimento total (cm) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.....	70
Tabela 8. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho e sobrevivência de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas sexualmente, cultivadas em tanques-rede por 115 dias alimentadas com dietas com dois níveis de proteína bruta.....	72

Tabela 9. Valores de F e médias de proporção de machos de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas sexualmente, cultivadas em tanques-rede por 115 dias alimentadas com dietas com dois níveis de proteína.....	74
Figura 1. Tilápia do Nilo revertida, cultivada em tanque-rede, alimentada com dieta contendo 32%PB, com a cavidade celomática aberta mostrando o fígado <i>in situ</i>	76
Figura 2. Fotomicrografias de fígados de tilápias revertidas e alimentadas com dois níveis de proteína bruta na dieta.....	78

CAPÍTULO 5. DESEMPENHO E HISTOLOGIA HEPÁTICA DE TILÁPIAS DO NILO REVERTIDAS OU NÃO, ALIMENTADAS COM DIETAS PRÁTICAS COM DIFERENTES FONTES E TEORES PROTÉICOS

Resumo	80
Abstract	81
Introdução	82
Material e Métodos	83
Resultados e Discussão	89
Conclusões	97
Referências	98

Tabela 1. Composição percentual e químico bromatológica das dietas experimentais..	87
Tabela 2. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o experimento.....	89
Tabela 3. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia do Nilo não revertidos e revertidos cultivados em laboratório durante 105 dias e alimentados com diferentes níveis e padrões protéicos na dieta.....	91
Tabela 4. Valores de F e médias de proporção de machos de juvenis de tilápia do Nilo revertidas e não revertidas, cultivados em laboratório.....	93
Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápia revertida ou não revertidas após 105 dias de alimentação com dietas contendo diferentes níveis e fontes de proteína bruta.....	96
Considerações finais.....	99

Resumo geral

O estudo teve como objetivo comparar o desempenho produtivo de tilápias do Nilo revertidas ou não por meio da utilização do hormônio 17- α -metiltestosterona (MT) adicionado a dietas práticas e analisar histologicamente o fígado dos peixes. Foram conduzidos quatro experimentos com tilápias do Nilo, da linhagem tailandesa, revertidas ou não revertidas, desde a larvicultura até a engorda em tanques-rede. As dietas utilizadas nos experimentos foram formuladas de forma a assemelharem-se às dietas comerciais utilizadas nas pisciculturas, sendo isocalóricas, variando os níveis e fontes de proteína bruta. Procurou-se simular as causas de fígado gorduroso e friável e mortalidade próxima ao abate de tilápias do Nilo cultivadas em regime intensivo. No primeiro experimento, conduzido com larvas desde a eclosão até 60 dias de idade, observou-se que o nível de 30 mgMT.kg⁻¹ adicionado à dieta, possibilitou eficiência na reversão, melhor desempenho produtivo e menores danos ao fígado que na dosagem de 60 mgMT.kg⁻¹. Nesse mesmo experimento, os peixes que não receberam hormônio tiveram maior taxa de sobrevivência e não mostraram alterações histológicas no fígado. No segundo experimento, a reversão sexual favoreceu o desempenho dos juvenis na fase de recria. Porém, não foi possível observar diferenças no desempenho entre os níveis de proteína da dieta. Um terceiro experimento com tilápias cultivadas em tanques-rede dos 120 aos 600 g de peso, os peixes mostraram melhor desempenho quando alimentados com dieta contendo 32% PB, sendo que o fato de terem passado pelo processo de reversão ou não, não influenciou o desempenho. Um quarto experimento foi realizado concomitantemente ao terceiro em laboratório com juvenis de 30 g até atingirem 200 g e as tilápias revertidas apresentaram melhor desempenho. As análises histológicas mostraram alterações do fígado dos peixes que passaram pela reversão dos quatro experimentos, agravadas nos peixes alimentados com teores mais elevados de proteína bruta na dieta.

Palavras chave: tilápia, reversão sexual, 17- α -metiltestosterona, alevinagem, tanques-rede, fígado

Abstract

The aim of the study was compared reversed or no reversed Nile tilapia growth performance and liver histology. Fishes were sex reversed with addition of 17- α -methyltestosterone (MT) at the diets. The study was divided in four experiments: larval phase, growth phase and the final phases in cages and at laboratory. The diets were isocalorics, formulated as commercial diets common used in the Brazil tilapia cultures, utilizing levels and sources protein. The objective was simulated the fat liver problem detected at tilapia farms. In the first experiment, there were used fries until 60 days of culture. There was observed that the level of 30 mgMT.kg⁻¹ conducted to efficiency in the sex reversal with best growth performance and less liver damages than the level of 60 mgMT.kg⁻¹. The fishes that didn't receive MT reached best survival and didn't show any liver alteration. In the second experiment, the facts of the fishes were sex reversed increased the growth performance of juveniles. But there was not difference in the growth performance by protein levels. The third experiment conducted at cages, with fishes of 120g until 600g, showed best growth performance when fed with 32% crude protein, but there was no difference by the fact of they were reversed or no. The fourth experiment was conducted at the same time of the third, at laboratory with tilapias of 30g until 200g. The reversed fishes showed best growth performance than the no reversed ones. Alterations of liver histology of the fishes reversed at the four experiments were noted. But there were more severe in the fishes fed with higher levels of crude protein.

Key words: Nile tilapia, sex reversal, 17- α -methyltestosterone, growth performance, cages, liver.

Introdução geral

A demanda por proteína de alto valor biológico para a alimentação humana no mundo cresce exponencialmente. Porém, a quantidade de pescado nos mares encontra-se em franco declínio principalmente por causa da sobrepesca, do efeito estufa e da poluição nos mares. A tecnologia aplicada na pesca marinha é extremamente avançada, sem a contrapartida de aplicação de medidas de manejo que recuperem e preservem os estoques pesqueiros, e ainda representa agressão aos ecossistemas marinhos. Neste panorama, a aquicultura é atividade em ascensão no mundo, tanto em países em desenvolvimento como desenvolvidos. Os alimentos gerados pela aquicultura sustentável tanto marinha quanto continental apresentam características nutricionais excelentes para o homem. Segundo a FAO (2006), a maior parte da produção de peixes, crustáceos e moluscos vem da aquicultura continental. Dentre as espécies de peixe, o grupo das carpas está em primeiro lugar, seguido dos salmonídeos e da tilápia.

Aquicultura Continental é uma das atividades autosustentáveis que mais tem crescido no Brasil. O nosso país detém vários fatores para o desenvolvimento da atividade: coleções hídricas extensas, abundantes e disponíveis, condições climáticas favoráveis (pouca variação de temperatura do ar e da água), tecnologia disponível (técnicas de criação, equipamentos e insumos). A tilápia é a espécie mais cultivada no nosso país (IBAMA, 2005). Estima-se que hoje já se produza cerca de 100 mil toneladas de tilápias, num agronegócio que movimenta 105 milhões de dólares por ano.

O contínuo crescimento da atividade depende, entre outros fatores, da garantia de se produzir pescado saudável para o consumo humano. A ocorrência de alta mortalidade com a constatação de fígado gordo nas tilápias cultivadas em sistemas intensivos tem colocado em dúvida a qualidade desse pescado. Além de níveis de proteína e energia altos na dieta, algumas hipóteses sobre a causa deste problema têm sido levantadas. A masculinização das tilápias na fase larval utilizando-se do hormônio 17- α -metiltestosterona deve ser considerada, pois alterações hepáticas também foram constatadas no ser humano e outras espécies de mamíferos. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de pesquisar as causas destes problemas, procurando simular o que acontece nas pisciculturas com as tecnologias e as dietas utilizadas para a alimentação das tilápias. Para isso utilizou-se de níveis e fontes protéicas em dietas práticas para os diversos estágios de vida das tilápias, analisando-se o desenvolvimento e alterações histológicas no fígado destes peixes.

CAPÍTULO 1

Considerações iniciais

A comunidade científica está preocupada com a situação de crescimento exponencial na demanda por proteína de alto valor biológico para a alimentação humana. O pescado representa a mais saudável opção de alimento fornecedor desse nutriente. De acordo com a FAO (2007a), antes de 2030 será necessário produzir aproximadamente 37 milhões de toneladas adicionais de peixe por ano para manter os níveis atuais de consumo mundial.

Os estoques pesqueiros de origem marinha estão ameaçados. Segundo a ONU, os mares estão comprometidos com a pesca, a produção de lixo, gases do efeito estufa e esgoto, além da navegação, que também ameaça os ecossistemas marinhos. A técnica de pesca nos mares é realizada por meio de alta tecnologia, com super pesqueiros, sonares e aviões que localizam os cardumes.

Muita pesquisa é necessária para descobrir como reverter os danos causados aos oceanos. Porém não se sabe o que ainda está a tempo de ser salvo. Uma solução encontrada para amenizar o declínio dos estoques de pesca é a aquicultura sustentável. As fazendas marinhas são hoje um dos setores da indústria agropecuária que mais cresce no mundo. A aquicultura por meio de gestão responsável e sustentável é a atividade alternativa à pesca que deve ter prioridade nos países em desenvolvimento por ser responsável pela maior parte da produção de peixes, crustáceos e moluscos do mundo. Entre as espécies de peixe de água doce, o grupo das carpas está em primeiro lugar, seguido dos salmonídeos e da tilápia (FAO, 2007b).

O mundo tem acompanhado situação de desenvolvimento rápido e crescente do Brasil, em vários campos da agropecuária e da indústria. Esse desenvolvimento só será

efetivo se o setor primário tiver o devido apoio e valorização. Neste contexto, a aqüicultura continental é uma das atividades autosustentáveis que mais tem crescido.

O nosso país detém vários fatores para o desenvolvimento da atividade: coleções hídricas extensas, abundantes e disponíveis, condições climáticas favoráveis (pouca variação de temperatura do ar e da água), tecnologia disponível (técnicas de criação, equipamentos e insumos) e grande número de espécies nativas e não nativas adaptadas e geneticamente aperfeiçoadas. Entre todas as espécies, a tilápia originária do continente Africano vem destacando-se muito rapidamente. O cultivo racional de tilápia é praticado no mundo inteiro, em diversos climas, sistemas de produção e salinidades, por sua fisiologia adaptativa, biologia reprodutiva, plasticidade genética, fácil domesticação e comercialização (Alceste & Jory, 1998).

A produção comercial de tilápia foi mais difundida em nosso país na década de 1970, após a primeira introdução de tilápia nilótica no Nordeste em 1971, proveniente da Costa do Marfim. Atualmente, a tilápia é a principal espécie de peixe cultivada no Brasil, tendo atingido 69078 toneladas em 2004, representando 38,4% da produção brasileira de peixes cultivados (IBAMA, 2005). Estima-se que hoje o nosso país já produza cerca de 100 mil toneladas de tilápias, num agronegócio que movimenta 105 milhões de dólares por ano.

O Brasil deverá se tornar o maior produtor de tilápia cultivada do mundo. Os EUA atualmente são os maiores compradores do peixe, adquirindo 135 mil toneladas por ano no mercado mundial. Para isso, é preciso que a tilápia brasileira tenha preço e qualidade competitivos comparados aos dos países asiáticos e latino-americanos, tradicionais exportadores de tilápias. Estes requisitos também são necessários para conquistar e dividir espaço com outras carnes no mercado interno. O consumo brasileiro

tem sido incrementado pelo sabor da carne da tilápia e as técnicas que têm sido adotadas para agregar valor ao produto.

A tilápia do Nilo apresenta muitos atributos que a torna o melhor peixe para a piscicultura: rápido crescimento, tolerância a ampla faixa de condições ambientais (temperatura, salinidade, baixo oxigênio dissolvido), grande resistência a estresse e doenças, habilidade de reprodução em cativeiro, baixo intervalo de gerações, alimentação no nível trófico mais baixo e aceitação de dietas balanceadas imediatamente após a absorção do saco vitelínico (El-Sayed, 2006). A tilápia do Nilo é uma das espécies mais estudadas no mundo e no Brasil. Devido aos vários sistemas de seu cultivo, muito ainda tem que ser pesquisado sobre os parâmetros que condicionam o desempenho da tilápia em cativeiro.

Na produção de tilápia, o cultivo monosexo é apontado como solução para a maturidade precoce e a reprodução descontrolada desta espécie (Meurer *et al.*, 2004). O potencial para a obtenção de vantagens desta técnica justifica a sua prática: alcance de altas taxas de crescimento, eliminação da reprodução, redução do comportamento sexual e/ou territorial, redução da variabilidade de tamanho final e a redução do risco de impacto ambiental devido ao escape de peixes exóticos. Vários métodos têm sido testados ou sugeridos para o cultivo somente de machos de tilápias. Incluindo o consórcio com espécies adequadas de predadores, a geração de larvas estéreis por meio da triploidia e tetraploidia, e o uso de hibridização para produzir estoques monosexos, além da utilização de reversão hormonal. Entretanto, somente a última técnica tem-se mostrado verdadeiramente eficiente e viável.

A reversão sexual das larvas utilizando-se o hormônio 17- α -metiltestosterona na ração é o método mais difundido, utilizado indiscriminadamente pelas pisciculturas. Muito é discutido sobre as técnicas de utilização (dosagens e duração), vantagens e

efeitos para o peixe e o meio ambiente. Nos países da Europa, essa prática é proibida (El-Sayed, 2006). O consumidor europeu é o mais exigente em garantias de produtos produzidos de forma sustentável e saudáveis. O mercado consumidor europeu apresenta-se bastante promissor aos piscicultores brasileiros, que devem procurar adequar-se às exigências desse mercado.

Alguns problemas relacionados com a alta produtividade da tilápia têm surgido com a intensificação dos sistemas de produção, causando prejuízos econômicos, e afetando a saúde dos peixes. Os piscicultores têm notado deformidades no fígado da tilápia, como o aspecto gorduroso e friável, ligadas à alta mortalidade do peixe próximo ao abate.

Os vertebrados possuem fígado definido, sendo o órgão mais volumoso do corpo, e que sempre ocupa área considerável na parte ventral e anterior do abdome (Hildebrand, 1995). As células hepáticas, os hepatócitos, possuem inúmeras funções como síntese de albumina e fibrinogênio, armazenamento de lipídios e glicídios sob forma de gorduras neutras e glicogênio, depósito de vitamina A. Uma função hepática importante é a detoxificação, onde muitas substâncias tóxicas são neutralizadas e posteriormente excretadas na bile (Junqueira & Carneiro, 1991).

O fígado dos peixes tem como função principal preparar as substâncias nutritivas, provenientes da absorção intestinal, para serem aproveitadas pelo organismo. Outra função importantíssima é estocar gordura. O fígado produz sais biliares que fazem emulsificação ou solubilização das gorduras, facilitando a ação das enzimas (Baldisserotto, 2002). Substâncias tóxicas ou estranhas ao organismo são também metabolizadas no fígado para posterior excreção.

O fígado nos teleósteos apresenta-se como órgão principal, controlando muitas funções vitais. O tecido hepático tem inúmeras funções importantes nesses peixes.

Participa da síntese de proteínas, lipídios, carboidratos e, principalmente de vitelogenina (importante na vitelogênese). Tem função catabólica e de excreção de nitrogênio e glicogênio. É responsável pela detoxificação de xenobióticos. O fígado desses peixes deveria ser considerado órgão alvo para estudos de muitos parâmetros ambientais e biológicos que podem alterar sua estrutura e metabolismo: alimentos, poluentes, toxinas, metais pesados, parasitas e microorganismos (Bruslé & Anadon, 1996).

Fígados gordurosos e aumentados de volume, com esteatose ou lipidose hepática são resultados de acúmulo excessivo de lipídeos no interior dos hepatócitos. Nos vertebrados mamíferos, a esteatose pode ser causada por deficiência ou excesso de minerais e vitaminas na dieta, peroxidação dos ácidos graxos da dieta, intoxicações, infecções, neoplasias. Camundongos tratados com metiltestosterona na dose de cinco mg/kg de peso via oral por dez meses apresentaram displasia hepatocelular (Taylor *et al.*, 1993).

No homem, várias são as causas de danos ao fígado, mas a terapia de reposição hormonal por meio da ingestão oral de um preparado à base de metiltestosterona provocou esteatose e cirrose hepática (Westaby *et al.*, 1977). O uso de esteróides anabolizantes por atletas e jovens, com a finalidade de aumentar a força e massa muscular, tem sido combatido pelos médicos, por provocar graves, e muitas vezes irreversíveis, efeitos colaterais como a esteatose, cirrose hepática e câncer no fígado. Sendo assim, a comunidade científica tem advertido sobre os efeitos maléficos do uso de hormônios anabolizantes pelo homem e seu uso é considerado ilícito.

Fígado e rins da tilápia são os principais órgãos responsáveis pela eliminação dos metabólitos do hormônio metiltestosterona (Goudie *et al.*, 1986; Curtis *et al.*, 1991). Gannam & Lovell (1991) analisaram histologicamente o fígado e rins do bagre do canal alimentado com metiltestosterona e beta estradiol e encontraram alterações nos

hepatócitos. Simone (1990) encontrou respostas hepatotróficas em bagre do canal alimentado com dietas contendo metiltestosterona, retardando o seu crescimento. A suplementação com metiltestosterona na dieta do salmão visando aumento na taxa de crescimento e eficiência alimentar foi estudada e foram avaliadas as alterações hepáticas (Yu *et al.*, 1979; Fagerlund *et al.*, 1983).

Atualmente, existe a tendência dos consumidores exigirem produtos cada vez mais saudáveis. A demanda do mercado pelo peixe em substituição a outros alimentos é crescente, sendo a tilápia a espécie que vem se destacando em produtividade, cresce a preocupação com a masculinização das fêmeas, pois ainda é considerado que o macho tem maior capacidade de crescimento. A técnica que ainda é a mais utilizada para isso é a do uso de 17- α -metiltestosterona na alimentação das pós-larvas. Os produtores, pesquisadores e consumidores vêm se preocupando com o risco que a utilização hormonal na tilapicultura pode trazer à saúde humana, à saúde do peixe e ao ambiente aquático. Pesquisas em nutrição, genética e manejo ainda devem ser realizadas, objetivando a busca de alternativas que possibilitem a eliminação dessa técnica no cultivo de tilápia.

Com base nos danos causados pelo uso de hormônios ao homem e aos mamíferos em geral, muito já foi feito com relação aos animais produtores de carne, quanto à proibição da utilização de hormônios na alimentação animal. Isto porque, aos técnicos e pesquisadores da área de produção animal, cabe a responsabilidade pela cadeia nutricional humana e a produção de alimentos saudáveis e de boa qualidade. A produtividade é importante, porém, atenção deve ser dispensada à saúde humana.

O objetivo do presente estudo foi pesquisar as prováveis causas de fígado gorduroso em tilápias do Nilo, formulando-se dietas práticas com base na proteína bruta e com níveis e fontes protéicas, simulando as condições práticas de produção nas

pisciculturas. Para tanto, avaliou-se o desempenho produtivo e o perfil histológico hepático de tilápias submetidas ou não à reversão sexual, durante seus vários estágios de cultivo: as fases de reversão, alevinagem e recria em laboratório, e de engorda em tanques-rede. Cada fase, correspondendo a um experimento.

Referências

- Alceste, C. & Jory, D.E. (1998) Analisis de la tendencias actuales en la comercializacion de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Union Europea. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1., 1998, Recife. *Anais...* Recife: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, p.349-364.
- Baldisseroto, B. (2002) *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 1.ed. Santa Maria, RS, Universidade Federal de Santa Maria. 212p.
- Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: *Fish Morphology*. Science Publishers. 300p.
- Curtis, L.R., Diren, F.T., Hurley, M.D., Seim, W.K. & Tubb, R.A. (1991) Disposition and elimination of 17-alpha-methyltestosterone in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, **99**, 193-201.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia culture*. Cambridge, CABI Publishing, 277p.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2007a) *Aquaculture only way to fill the coming "fish gap"*. Disponível em < <http://www.fao.org/newsroom/en/news/2007/1000701/index.html>> Acesso em: 16/02/2008.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2007b) *The state of world fisheries and aquaculture*. Rome, Italy, FAO Fisheries and Aquaculture Department, 180p. Disponível em <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0699e/a0699e.pdf>> Acesso em: 15/01/2009.
- Fagerlund, U.H.M., Higgs, D.A., McBride, J.R., Plotnikoff, M.D., Dosanjh, B.S. & Market, J.R. (1983) Implications of varying dietary protein, lipid and 17-alpha-methyltestosterone content on growth and utilization of protein and energy in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kitstch*). *Aquaculture*, **30**, 109-124.
- Gannam, A.L. & Lovell, R.T. (1991) Effects of feeding 17-alpha-methyltestosterone, 11-ketotestosterone, 17-beta-estradiol and 3, 5,3'-triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **84**, 81-93.
- Goudie, C.A., Shelton, W.L., Parker, N.C. (1986) Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to adult blue tilapia. *Aquaculture*, **58**, 227-240.
- Hildebrand, M. (1995) *Análise da Estrutura dos Vertebrados*. São Paulo, Ateneu, 700p.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2005). *Estatística da Pesca – 2004 - Brasil*. Disponível em <[http:// 200. 198. 202. 145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf](http://200.198.202.145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf)> Acesso em 27/10/ 2008.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (1991). *Histologia Básica*. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan. 795p.
- Meurer, F., Hayashi, C., Costa, M.M., Freccia, A. & Mauerwerk, M.T. (2004). Uso da *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. In: Anais da 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Campo Grande, MS, Brasil.
- Simone, D.A. (1990) The effects of the synthetic steroid 17-alpha-methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **84**, 81-93.
- Taylor, W., Snowball, S., Lesna, M. (1993) The effects of long-term administration of methyltestosterone on the development of liver lesions in BALB/c mice. *American Journal of Pathology*, **143**, 211-218.
- Westaby, D., Ogle, S.J., Paradinas, F.J., Randell, J.B., Murray-Lyon, I.M. (1997) Liver damage from long-term methyltestosterone. *Lancet*, **2**, 8032, 262-263.

Yu, T.C., Sinhubber, R.O., Hendricks, J.D. (1979) Effect of steroid hormones on the growth of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, **16**, p.351-359.

CAPÍTULO 2

Reversão sexual e alevinagem de tilápia do Nilo: desempenho produtivo, efetividade da reversão e histologia de fígado

Resumo- No presente experimento avaliou-se crescimento, sobrevivência, efetividade da reversão sexual e histologia hepática de tilápias do Nilo da linhagem tailandesa, revertidas ou não. Foi realizado na Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, Laboratório de Tilapicultura, Jaboticabal, SP. Foram utilizadas 7200 larvas recém-eclodidas, distribuídas em 18 caixas de 200 L com sistema de circulação de água e aeração forçada, na densidade de duas larvas/L. Os peixes foram alimentados com uma dieta básica comercial farelada contendo 45% de proteína bruta (PB) e três níveis de 17- α -metiltestosterona (MT): 0, 30 e 60 mg.kg⁻¹ da dieta, na fase de reversão sexual. A alimentação foi fornecida até a saciedade aparente, seis vezes ao dia. Os parâmetros físico-químicos da água estiveram dentro do aceitável para larvas e alevinos de tilápia. Após a fase de reversão sexual, os peixes foram anestesiados, contados, pesados, medidos e devolvidos às suas caixas. A fase de alevinagem foi realizada para que os peixes atingissem tamanho suficiente para a identificação do sexo e, ao final, foram anestesiados, contados, pesados, medidos, sacrificados em gelo, fixados em solução de formaldeído a 10% por 72 horas. Foram conservados em álcool etílico 80° para posterior identificação do sexo por exame microscópico, utilizando-se da técnica de identificação de gônadas pelo método do acetato carmim. Obtiveram-se as seguintes proporções de machos para os alevinos alimentados com 0, 30 e 60mg de MT.kg⁻¹ da dieta: 59,6; 98,4; e, 100%, respectivamente. A taxa de sobrevivência dos alevinos que não receberam dieta com hormônio foi o dobro das taxas de sobrevivência dos alevinos que receberam MT na dieta, tanto ao final da reversão sexual quanto ao final da alevinagem. As médias de peso e comprimento final dos alevinos que receberam 30mg de MT.kg⁻¹ da dieta foram as maiores. Porém, não houve diferença entre o peso e o comprimento dos alevinos não revertidos e os que receberam 60mg de MT.kg⁻¹ da dieta. Alterações hepáticas conseqüentes de modificações no metabolismo dos hepatócitos foram identificadas nos alevinos que receberam hormônio na dieta, sendo mais severas na dose de 60 mgMT.kg⁻¹.

Palavras chave: tilápia, reversão sexual, 17- α -metiltestosterona, efetividade da reversão, desempenho, histologia de fígado

Growth performance, reversion effectiveness and liver histology of Nile tilapia fries

Abstract- A study with Nile tilapia at the sex reversal and growth phases was carried out in the São Paulo State University, Aquaculture Center, Tilapiculture Laboratory, Jaboticabal, São Paulo State, Brazil (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W). A total of 7200 fries were distributed with the density of 2 fries.L⁻¹, into 18 boxes of 200L each, in a circulation system, with control of temperature and forced aeration. Fishes were fed commercial diet content 45 %CP and the addition of 0, 30 and 60 mg of 17- α -methyltestosterone (MT) per kilogram of the diet in the sex reversal phase. The diets were distributed six times per day, until the apparent satiation. All water physical chemicals parameters (morning temperature, afternoon temperature, dissolved oxygen, pH and ammonia concentration) were the suggested for tilapia fries. In the end of the sex reversal phase, all fish were anesthetized, counted, weighted, measured and returned to their boxes. A 30 days pos reversal phase was carried out with the same manner without the addition of the MT in the diet, until fish reached an afford size for sex identification. At the end of this phase, all the fish were anesthetized, counted, weighted, measured and dead into ice, fixed, and conserved into an ethylic alcohol solution for sex determination by the gonad microscopy visualization. The male proportions were 59.6; 98.4; and, 100% for the fish fed 0, 30 and 60mg of MT.kg⁻¹ in the diet, respectively. The fish survival was twice the value for fishes that did not received MT in the diet, both in the end of the sex reversal phase and in the end of the experiment. Fishes weight and length that received 30mg of MT.kg⁻¹ in the diet were higher than fishes that did not received the MT and that received 60mg of MT.kg⁻¹ in the diet, but there was no difference between these ones. Hepatic alterations that indicated metabolic alterations in the hepatic cells were found in the liver of the fishes that received hormone in the diet. They were more severe in fishes fed 60 mg MT.kg⁻¹ in the diet.

Key Words: tilapia, sex reversal, 17- α -methyltestosterone, reversion effectiveness, performance, liver histology

Introdução

O cultivo da tilápia sem distinção de sexo foi prática comum em muitos países durante décadas. Porém, nos últimos vinte anos, atenção tem sido dada ao cultivo de tilápia monosexo (somente machos). A esse tipo de cultivo têm sido atribuídas vantagens que o tornam excelente opção para a piscicultura. Entre essas vantagens estão: altas taxas de crescimento e eficiência na utilização do alimento, alta tolerância a condições de ambiente desfavoráveis, redução da agressividade e territorialidade, maior uniformidade dos lotes, alta resistência a estresse e doenças, e controle da reprodução indesejável (El-Sayed, 2006).

Muitos piscicultores e pesquisadores (Meurer *et al.*, 2004) consideram a maturidade precoce e a reprodução incontrolada desta espécie como fatores de entrave à produção de tilápia, e vêem no cultivo monosexo a única alternativa para alcançar altas taxas de crescimento, eliminar a reprodução indesejada, diminuir o comportamento sexual e/ou territorial, reduzir a heterogeneidade de tamanho entre os peixes e o risco de impacto ambiental devido à fuga acidental de peixes.

Os métodos de reversão sexual utilizando-se hormônios andrógenos na dieta ou em banhos de imersão têm sido os mais utilizados e pesquisados, por mostrarem-se eficientes, de fácil utilização e economicamente viáveis. Porém, o uso de hormônios na reversão sexual tem estado sob crescente discussão devido aos possíveis impactos sobre a saúde do peixe e do homem e sobre o ambiente. Esta prática é permitida nos EUA e proibida na Europa (El-Sayed, 2006).

A intensificação da tilapicultura é cada vez mais crescente. Aliada a esta intensificação, vem sendo discutida a sustentabilidade da atividade, com a busca de custos e efluentes mínimos e a criação da tilapicultura orgânica, que utilize os logotipos ecológicos na comercialização dos seus produtos (Zimmermann & Fitzsimmons, 2004).

Logicamente, para esse tipo de produto, a utilização de hormônio na dieta deve ser discutida, mesmo na fase larval. A tendência do consumidor, principalmente europeu, é buscar produtos cada vez mais seguros biologicamente, e o mercado europeu é o maior alvo, atualmente, para a exportação pela cadeia produtiva brasileira de tilápia.

Segundo Rothbard *et al.* (1990) e Guerrero III & Guerrero (1997), o hormônio 17- α -metiltestosterona utilizado na dieta é o que demonstra melhores resultados para a reversão sexual. Essa técnica é a mais utilizada pelos produtores de alevinos no Brasil, devido à sua eficácia, facilidade de aplicação, menores custo e necessidade de mão-de-obra. Os piscicultores em geral têm relatado melhor peso, comprimento e homogeneidade de lotes de alevinos tratados com 17- α -metiltestosterona, em relação a lotes não tratados com este hormônio. Porém, este método tem sido muito discutido no meio científico, porque ainda não se determinaram exatamente as conseqüências desta técnica sobre o ambiente e o organismo do peixe, desde a alevinagem até a engorda.

Vários autores relataram efeitos prejudiciais ao organismo, principalmente no fígado do homem e de outros mamíferos, causados pela metiltestosterona (Westaby *et al.*, 1977; Taylor *et al.*, 1993). Também têm sido relatados efeitos nocivos da metiltestosterona no fígado de várias espécies de peixes (Yu *et al.*, 1979; Fagerlund *et al.*, 1983; Simone, 1990; Gannam & Lovell, 1991).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência, o crescimento e a proporção de machos dos alevinos de tilápias alimentadas ou não com dietas adicionadas do hormônio 17- α -metiltestosterona, em duas doses. E avaliar o efeito da inclusão do hormônio na dieta na estrutura do fígado dos peixes.

Material e métodos

Instalações e condições experimentais

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aqüicultura (CAUNESP), Laboratório de Tilapicultura, localizado em Jaboticabal, São Paulo (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W), durante 60 dias. Larvas de tilápia do Nilo da linhagem tailandesa foram distribuídas na densidade de duas larvas/L, em 18 caixas de polietileno de 200 L, com sistema de circulação de água, temperatura da água controlada e aeração contínua.

Durante o experimento, a temperatura da água foi aferida duas vezes ao dia, às 09h30min e às 15h30min, em duas caixas por tratamento, tomadas ao acaso, usando termômetro de bulbo de mercúrio, para controle da temperatura da água de circulação.

As variáveis físico-químicas da água foram analisadas semanalmente, às sete horas da manhã, em amostras de duas caixas por tratamento. Foram avaliados potencial hidrogeniônico (potenciômetro digital- Corning OS-30), oxigênio dissolvido na água (mg.L^{-1}) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (oxímetro digital-YSI- *Yellow Spring Instruments* 54A) e amônia total (mg.L^{-1}) (espectrofotômetro).

Material biológico e manejo

Foram utilizadas 7200 larvas recém-eclodidas de tilápias do Nilo cujos ovos foram obtidos em coleta diretamente da boca em um mesmo grupo de matrizes do Laboratório de Tilapicultura do CAUNESP. A incubação das larvas foi realizada no próprio laboratório, em incubadoras cônicas de 2 L com sistema de circulação de água e controle de temperatura. As larvas com vinte e quatro horas de eclosão, reabsorvendo o saco vitelínico e mostrando capacidade de se alimentar, foram contadas e distribuídas ao acaso nas unidades experimentais. Foram realizadas amostragens iniciais em que as médias de peso e comprimento das larvas foram $11,9 \pm 0,08$ mg e $7,76 \pm 0,52$ mm, respectivamente. As

larvas foram alimentadas seis vezes ao dia (às 07h30min, 09h30min, 11h30min, 13h30min, 15h30min e 17h30min) observando-se o consumo da dieta até alcançar-se a saciedade aparente. As caixas eram limpas diariamente retirando-se os restos de ração e fezes acumulados no fundo, por meio de sifonagem manual com mangueira de borracha às sete horas da manhã. Nos dias da aferição dos demais parâmetros físico-químicos da água, a análise era realizada antes da limpeza das caixas. O fotoperíodo no laboratório durante todo o experimento foi de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Dietas experimentais

Para a alimentação utilizou-se dieta comercial farelada contendo no mínimo 45% de proteína bruta, 9% de extrato etéreo, 1% de fósforo e, no máximo, 6% de fibra bruta, 13% de matéria mineral e 3% de cálcio, segundo o fabricante. As dietas experimentais foram constituídas com a adição de três níveis de 17- α -metiltestosterona: 0, 30 e 60 mg.kg⁻¹, e preparadas no próprio laboratório por meio da adição ou não do hormônio diluído em meio litro de álcool etílico (92,8°) para cada quilo de dieta industrializada, homogeneizando-se bem. Em seguida, as dietas foram espalhadas em bandejas plásticas e colocadas para secar em local bem ventilado, abrigado do sol e da luz direta, revirada de tempos em tempos para permitir a completa evaporação do álcool. Após 24 horas, as dietas foram estocadas em sacos plásticos escuros e mantidas sob refrigeração a 6°C. Os tratamentos foram sorteados ao acaso nas caixas, para arrazoamento das larvas.

Delineamento experimental

O ensaio foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos. Os tratamentos corresponderam aos três níveis de 17- α -metiltestosterona (0, 30 e 60 mg.kg⁻¹) adicionados à dieta industrializada, com seis repetições cada.

Primeira fase experimental

A primeira fase, de reversão sexual, em que as larvas foram arraçadas com dietas contendo ou não o hormônio 17- α -metiltestosterona, teve duração de 30 dias. Ao final dessa fase, todos os alevinos foram anestesiados em uma solução de 10 mg de benzocaína por litro de água, contados, pesados e medidos. Após a biometria os peixes foram retornados às suas caixas.

Segunda fase experimental

A segunda fase, para alevinagem dos peixes, ocorreu do 31º ao 60º dia após a reversão (duração de 30 dias), quando os alevinos atingiram tamanho suficiente para a identificação do sexo. Nessa fase, os peixes foram manejados e alimentados da mesma maneira que na primeira fase, sem a utilização de hormônio.

Ao final da alevinagem, os peixes foram anestesiados e mortos em solução de 20 mg de benzocaína por litro de água. Foram contados, pesados, medidos (comprimento total) e mantidos em um vasilhame plástico com tampa contendo solução de formaldeído a 10% (50 mL de solução de formaldeído em 450 mL de água), separadamente por réplicas experimentais, por um período de 72 horas. Na seqüência, os peixes foram transferidos para uma solução de álcool etílico a 80º, para posterior identificação do sexo.

Parâmetros avaliados

Os parâmetros de desempenho avaliados no experimento foram: peso (g) aos 30 e 60 dias, ganhos de peso (g) nos intervalos de zero a 30 dias e de 30 a 60 dias, comprimento total (mm) aos 30 e 60 dias, e taxa de sobrevivência (%) aos 30 e 60 dias [$S = (n^\circ \text{ final de peixes} / n^\circ \text{ inicial de peixes}) \times 100$].

Os peixes foram pesados em balança digital (GEHAKA-B6-1000) e, medidos utilizando-se paquímetro digital de 0 a 150 mm (UUSTOOLS - Professional - MT 00855).

Efetividade da reversão

Foi avaliada a efetividade da reversão pela proporção de machos [% machos= (n° machos identificados/n° total final de peixes cujo sexo foi identificado) x 100].

A proporção de machos foi determinada pela análise microscópica das gônadas e identificação do sexo dos alevinos, utilizando-se a técnica do acetato-carmim, descrita por Guerrero e Shelton (1974), e validada para alevinos de tilápia do Nilo por Wassermann e Afonso (2002). Inicialmente, o alevino conservado no álcool etílico 80° era medido e as gônadas eram retiradas dos alevinos com comprimento maior que 25 mm, por meio da abertura da cavidade abdominal pelo ventre e colocadas em lâminas, coradas com acetato carmim a 45%, comprimidas levemente com uma lamínula e, posteriormente, examinadas ao microscópio ótico, sob objetiva 40x.

Coleta e análise histológica do fígado dos alevinos

No primeiro, 7°, 14°, 21°, e 28° dia da fase de alevinagem foram coletados aleatoriamente os fígados de quatro alevinos de cada tratamento. Inicialmente, os alevinos foram insensibilizados e mortos em gelo moído; foram cortadas a cabeça e a cauda e, após a abertura da cavidade abdominal, foi retirado o fígado. As amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído 2,5% com tampão fosfato (pH 7,2; 0,1 M), por 24 horas. Após a fixação, realizou-se o procedimento das oito lavagens, uma por dia, em tampão fosfato (pH 7,2; 0,1 M) para retirada da solução fixadora. A seguir, o material foi mantido em álcool 80° para posterior realização da análise histológica. A inclusão do material foi realizada em historesina (Historesin® - Leica). A microtomia foi realizada em micrótomo automático (Leica-RM2155, Germany) com a obtenção de cortes com três µm de espessura, e o material foi corado em Hematoxilina – Eosina e Azul de Toluidina 0,5%/ Fucsina básica 0,5% (Behmer, 1976). Os cortes histológicos foram analisados e fotomicrografados com fotomicroscópio Leica em software gwin.

Análise Estatística

Os dados resultantes do ensaio foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. Nas análises em que houve diferenças significativas, os dados foram submetidos a teste de comparação de médias ao nível de 5% de significância, pelo programa Statistical Analysis System (SAS, 2001).

Resultados e Discussão

Condições ambientais de cultivo

A temperatura média e os demais parâmetros físico-químicos da água durante as fases de reversão sexual e alevinagem são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o experimento.

Parâmetro	0 a 30 dias	31 a 60 dias
Temperatura/ manhã (°C)	27,56 ± 0,39	27,66 ± 0,49
Temperatura/ tarde (°C)	28,26 ± 0,53	28,35 ± 0,57
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,44 ± 1,15	5,24 ± 0,70
pH	7,34 ± 0,64	7,94 ± 0,12
Amônia (mg/L)	0,09 ± 0,05	0,54 ± 0,20

Os valores médios de temperatura pela manhã e à tarde, oxigênio dissolvido e pH estiveram dentro das recomendações para a aquicultura (Boyd, 1992; Sipaúba - Tavares, 1995; Popma & Phelps, 1998).

As condições ambientais de cultivo durante o ensaio foram favoráveis ao cultivo da tilápia. Segundo Kubitza (2000) a temperatura de conforto para o cultivo da tilápia deve estar entre 27 e 32°C, a faixa de pH considerada boa para tilápia é entre 6,0 e 8,5 e, a concentração de amônia adequada deve estar abaixo de 0,24 mg.L⁻¹. Apenas a concentração de amônia na fase de alevinagem esteve acima dos padrões recomendados pelo autor. Porém, o mesmo autor relatou que a concentração de amônia se eleva gradualmente durante o cultivo, o que pode permitir gradual adaptação das tilápias a um nível de amônia mais elevado. A toxicidade da amônia depende dos valores de oxigênio

dissolvido e pH (que estiveram dentro de limites ideais). Os alevinos de tilápia podem apresentar, relativamente, alta resistência aos níveis altos de amônia por curtos períodos de tempo.

Os valores médios de temperatura da água pela manhã e à tarde foram de 27,17°C e 28,92°C, durante as duas fases do ensaio, respectivamente, próximas da temperatura ótima considerada por El-Sayed (2006) que relatou que a temperatura é essencial para se obter o crescimento máximo na fase inicial de vida da tilápia e que o melhor crescimento de alevinos de tilápia em sistema de circulação de água ocorreu à temperatura de 28°C.

Desempenho produtivo

Os resultados da análise estatística dos parâmetros analisados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho e sobrevivência de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo 0, 30 e 60 mg.kg⁻¹ de 17- α -metiltestosterona (MT) durante a reversão sexual (30 dias) e alevinagem (31 a 60 dias).

Estatísticas	Desempenho na reversão sexual				Desempenho na alevinagem			
	Peso (g)	Ganho de peso (g)	Comprimento (mm)	Sobrevivência (%)	Peso (g)	Ganho de peso (g)	Comprimento (mm)	Sobrevivência (%)
F para tratamentos	5,42*	5,42*	0,56 ^{ns}	28,3**	9,53**	8,83**	5,98*	21,23**
CV (%)	12,54	12,87	5,02	14,96	17,92	20,26	5,89	27,99
Médias p/ as dietas c/:								
0 mgMT.kg ⁻¹ da dieta	0,41 ± 0,05 b ⁽¹⁾	0,40 ± 0,05 b	27,04 ± 1,14	60,58 ± 8,51 a	2,48 ± 0,39 b	2,08 ± 0,42 b	47,46 ± 2,24 b	32,63 ± 8,43 a
30 mgMT.kg ⁻¹ da dieta	0,52 ± 0,08 a	0,51 ± 0,08 a	27,64 ± 1,89	35,88 ± 6,48 b	3,90 ± 0,87 a	3,38 ± 0,81 a	53,22 ± 4,06 a	14,00 ± 4,38 b
60 mgMT.kg ⁻¹ da dieta	0,49 ± 0,04 ab	0,48 ± 0,04 ab	26,84 ± 0,85	35,71 ± 3,97 b	3,06 ± 0,21 ab	2,57 ± 0,21 ab	49,37 ± 2,11 ab	14,25 ± 2,55 b

** significativo (P<0,01); * significativo (P<0,05); ns- não significativo

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Ao final da fase de reversão sexual (30 dias), houve diferença entre os tratamentos para os valores médios de peso ($P < 0,05$), ganho de peso ($P < 0,05$) e taxa de sobrevivência ($P < 0,01$). Porém, não houve diferença quanto ao comprimento ($P > 0,05$).

Nesta fase, o peso e o ganho de peso foram maiores ($P < 0,05$) para os alevinos alimentados com a dieta contendo hormônio, não havendo diferença quanto às doses administradas ($P > 0,05$). Porém, os alevinos que não receberam hormônio na dieta tiveram o mesmo crescimento em peso e ganho de peso que os que receberam $60 \text{ mg MT. kg}^{-1}$ na dieta. A média de sobrevivência dos alevinos após os primeiros 30 dias de experimento foi quase o dobro ($P < 0,05$) para os que não foram alimentados com dieta contendo MT, em relação à dos que receberam dieta com as duas dosagens de MT, que não apresentaram diferenças entre si ($P > 0,05$).

Houve diferença para o ganho de peso dos 30 aos 60 dias (fase de alevinagem) ($P < 0,01$), que foi maior para os alevinos submetidos ao tratamento de reversão, não havendo diferença quanto às doses administradas ($P > 0,05$). Porém, os alevinos que não receberam hormônio na dieta tiveram o mesmo ganho de peso que os que receberam 60 mg MT.kg^{-1} na dieta.

Ao término do ensaio houve diferença entre os tratamentos para os valores médios de peso ($P < 0,01$), comprimento ($P < 0,05$) e taxa de sobrevivência ($P < 0,01$). Após 60 dias de cultivo, o peso e o comprimento foram maiores para os alevinos alimentados com hormônio na dieta, não havendo diferença quanto às doses administradas ($P > 0,05$). Porém, o peso e o comprimento dos alevinos que não receberam hormônio na dieta foram equivalentes aos dos que receberam 60 mg.kg^{-1} de MT na dieta. A taxa de sobrevivência ao final do ensaio para os alevinos que não foram alimentados com dieta contendo hormônio na fase de reversão sexual foi mais que o dobro dos que receberam hormônio ($P < 0,05$), não havendo diferença quanto à sobrevivência em relação às doses administradas na dieta

($P > 0,05$). A menor sobrevivência dos alevinos que receberam hormônio pode ser devida ao fato de serem menos resistentes pela sobrecarga no fígado na metabolização da MT.

As médias de peso e comprimento dos alevinos que receberam o hormônio MT na dieta apresentaram valores próximos aos valores mínimos de peso e comprimento descritos por Kubitzka (2000), de 0,5 a 1,5 g e 3 a 5 cm, após 28 dias de reversão sexual, indicando que o manejo adotado na fase de reversão sexual foi adequado.

A taxa média de sobrevivência dos alevinos que receberam o hormônio na dieta, após os 30 dias do início do experimento, esteve bem abaixo das taxas de sobrevivência encontradas para a tilápia do Nilo submetidas à reversão sexual, por diversos autores (Rani & Macintosh, 1997; Guerrero III & Guerrero, 1997; Phelps *et al.*, 1995). A menor taxa de sobrevivência mencionada pelos autores foi de 75%, para dosagem entre 10 a 40 mg de MT. kg^{-1} da dieta, por 28 dias.

Segundo Patterson & Salter (1985), o hormônio 17- α -metiltestosterona (MT), esteróide sintético, é considerado substância anabolizante biologicamente exógena. Os anabolizantes são substâncias químicas que aumentam o acúmulo de nutrientes no organismo animal, como o nitrogênio protéico fornecido pela proteína da dieta, aumentando a síntese protéica e aumento de massa muscular pelo animal, tornando-se substância química residual (Duarte *et al.*, 2002). Segundo Rinchar *et al.* (1999), o efeito anabolizante da metiltestosterona depende do estágio de desenvolvimento, tempo de administração do hormônio e fatores nutricionais. O melhor crescimento dos peixes revertidos nas duas fases do experimento poderia ser explicado, desta forma, pela ação anabolizante do hormônio 17- α -metiltestosterona.

O fato de os alevinos que não receberam MT na dieta apresentarem o mesmo crescimento dos que receberam a dosagem de 60 mg de MT. kg^{-1} foi devido a maior resistência e saúde desses peixes corroborada pelos melhores resultados de sobrevivência

(aproximadamente o dobro dos que receberam hormônio) e a ausência de alterações histopatológicas no fígado desses alevinos.

Efetividade da reversão

As gônadas, ao final da fase de alevinagem, foram visualizadas para a identificação do sexo. Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise estatística e as médias de proporção de machos por tratamento.

Tabela 3. Valores de F e médias de proporção de machos de grupos alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo 0, 30 e 60 mg MT.kg⁻¹

Estatísticas	Proporção de Machos (%)
F para tratamento	276,33**
CV (%)	3,94
Médias para as dietas com:	
0 mg MT.kg ⁻¹ da dieta	59,42 ± 5,60 b ⁽¹⁾
30 mg MT.kg ⁻¹ da dieta	98,43 ± 1,76 a
60 mg MT.kg ⁻¹ da dieta	100,00 ± 0,00 a

** significativo ($P < 0,01$)

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

Houve diferença entre os resultados de proporção de machos por tratamento ($P < 0,01$). A proporção de machos foi maior para os grupos de alevinos que receberam as duas doses de hormônio na dieta em relação ao que não recebeu ($P < 0,05$). Não houve diferença entre as doses de hormônio ($P > 0,05$). Os resultados mostraram efetividade na masculinização para as duas dosagens.

As médias de proporção de machos foram altas para os grupos de alevinos que receberam o hormônio na dieta. A menor dose recebida mostrou-se eficiente para obtenção de lotes monosexo. Vários autores têm recomendado para a tilápia do Nilo doses entre 30 e 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta por períodos variando entre 21 e 30 dias. Smith & Phelps (1996) obtiveram 82 a 92% de machos com 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta por 28 dias. Gale *et al.* (1999), alimentando alevinos com 60 mg MT.kg⁻¹ na dieta por 30 dias, encontraram 92%

de machos. Mainardes-Pinto *et al.* (2000), trabalhando com dois tipos de dieta comercial, encontraram 89 e 92% de machos para tilápias alimentadas com 30 mg MT.kg⁻¹ da dieta por 45 dias e, 99 e 98% de machos de tilápias alimentadas com 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta por 45 dias. Melhores resultados foram obtidos no presente trabalho (98,4 e 100% de machos para as doses de 30 e 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta, respectivamente) com a administração por 30 dias da dieta. Os últimos autores citados encontraram para os alevinos controle (que não receberam o hormônio na dieta) as médias de 58 e 56% de machos de duas linhagens diferentes, semelhantes à do presente trabalho (59,6% de machos) para os alevinos não revertidos. Os resultados do presente trabalho concordam com recomendações de vários autores de doses entre 30 e 60 mg MT.kg⁻¹ por 25 a 30 dias (Guerrero & Guerrero, 1988; Vera-Cruz & Mair, 1994; Green *et al.*, 1997). Kubitzka (2000) recomenda doses entre 30 e 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta por 21 a 28 dias, em 5 a 6 refeições diárias, para obtenção de lotes com 98 a 100% de machos.

Histologia de fígado

As amostras de fígado dos alevinos que não receberam 17- α -metiltestosterona na dieta, provenientes das coletas efetuadas ao longo da fase de alevinagem, mostraram-se semelhantes quanto à histologia. Na análise histológica, exibiram hepatócitos arredondados e arrançados em uma organização cordonal, em torno dos capilares sinusóides. Os hepatócitos apresentaram núcleo central com alta basofilia e citoplasma com pequenas vesículas e alta acidofilia. Neste tecido foi também observada a presença de hepatopâncreas e grânulos de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos. A partir da veia central se formavam pequenos capilares sinusóides que estavam em contato direto com os hepatócitos. Na coleta efetuada aos 14 dias após o final da reversão, a organização em cordões dos hepatócitos estava mais definida que nas primeiras duas coletas, e no citoplasma observou-se a presença de pequenas vesículas (Figura 1A).

Os resultados conferem com a descrição histológica do fígado de teleósteos (Kendall & Hawkins, 1975; Bruslé & Anadon, 1996), inclusive da tilápia do Nilo (Vicentini *et al.*, 2005), o que permite caracterizar a histologia do fígado dos peixes que não receberam hormônio com um padrão estrutural típico da espécie.

As amostras de fígado dos alevinos alimentados por trinta dias com dieta contendo 17- α -metiltestosterona na dose de 30 mg.kg⁻¹, revelaram características histológicas variáveis entre as coletas. Ao término da reversão e após sete dias, a histologia do fígado foi semelhante à do fígado dos alevinos que não receberam hormônio na dieta; porém, havia aumento nas vesículas presentes no interior do citoplasma dos hepatócitos. Após 14 dias do término da reversão sexual, as amostras de fígado apresentaram aumento na congestão sanguínea nos capilares sinusóides. Após 21 e 28 dias, as amostras apresentaram muitas vesículas no citoplasma, e este se mostrou claro (Figura 1B).

Logo após o término da reversão sexual, as amostras de fígado dos alevinos que receberam dieta com 17- α -metiltestosterona na dose de 60 mg.kg⁻¹, também apresentaram alterações histológicas, com aumento do volume dos hepatócitos, deslocamento do núcleo dos hepatócitos para a periferia da célula e a presença de vesículas no interior no citoplasma (Figura 1C). O deslocamento do núcleo é um indicativo de que a célula está com a atividade metabólica alterada. Sete dias após o término da reversão sexual, as mesmas alterações do fígado foram visualizadas e ainda o citoplasma dos hepatócitos apresentava-se claro, com baixa acidofilia, onde pôde ser verificado o desarranjo da organização cordonal dos hepatócitos (Figura 1D). Após 14 dias do término da reversão sexual, os capilares sinusóides apresentavam congestão sanguínea aumentada. Nas amostras de fígado coletado após 21 e 28 dias do término da reversão sexual, ocorreu aumento da congestão sanguínea nos capilares sinusóides. Neste período, ocorreu a presença de grandes vesículas no citoplasma dos hepatócitos.

O fígado dos peixes, à semelhança de todos os outros vertebrados é um órgão vital, responsável pela acumulação, biotransformação e excreção de compostos químicos estranhos ao organismo. O fígado pode apresentar diferentes formas de hepatodistrofias relacionadas a processos tóxicos, e suas extensão e gravidade dependem do tipo, duração e severidade da agressão e do estado fisiológico da célula envolvida (Robbins e Cotran, 2005).

Nas amostras de fígado retiradas dos alevinos deste experimento, foram visualizadas pequenas alterações microscópicas no tratamento com adição de 17- α -metiltestosterona na dosagem de 30 mg.kg⁻¹ na dieta. Alterações histológicas mais severas foram encontradas nas amostras de fígado dos alevinos que receberam a dose superior (60 mg.kg⁻¹).

Santos *et al.* (2004) avaliaram a histopatologia de fígados de *O. niloticus*, para o monitoramento de contaminação ambiental decorrente das atividades humanas na água da represa de Guarapiranga, e dentre as alterações encontradas estavam o aumento da vacuolização citoplasmática. Essas vacuolizações citoplasmáticas indicam a existência de regiões com provável concentração de lipídeos e glicogênio ou a combinação de agentes tóxicos com lipídeos intracitoplasmáticos. O acúmulo de lipídeos e a diminuição de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos prejudicam suas atividades metabólicas. Os autores concluíram que, provavelmente, as alterações encontradas estivessem relacionadas à ação de substâncias tóxicas ou xenobióticas presentes na água. No presente estudo, as alterações nos hepatócitos dos peixes, como o aumento da vacuolização citoplasmática, ocorreram em consequência da adição de 17- α -metiltestosterona na dieta. Isto é corroborado pela ausência de alterações no fígado dos alevinos que não receberam hormônio, e pelas alterações mais severas nos hepatócitos dos alevinos tratados com a maior dose do hormônio na dieta. A histologia do fígado das tilápias que receberam

hormônio na dieta caracteriza esteatose no fígado causada pelo hormônio, mais grave na maior dose estudada.

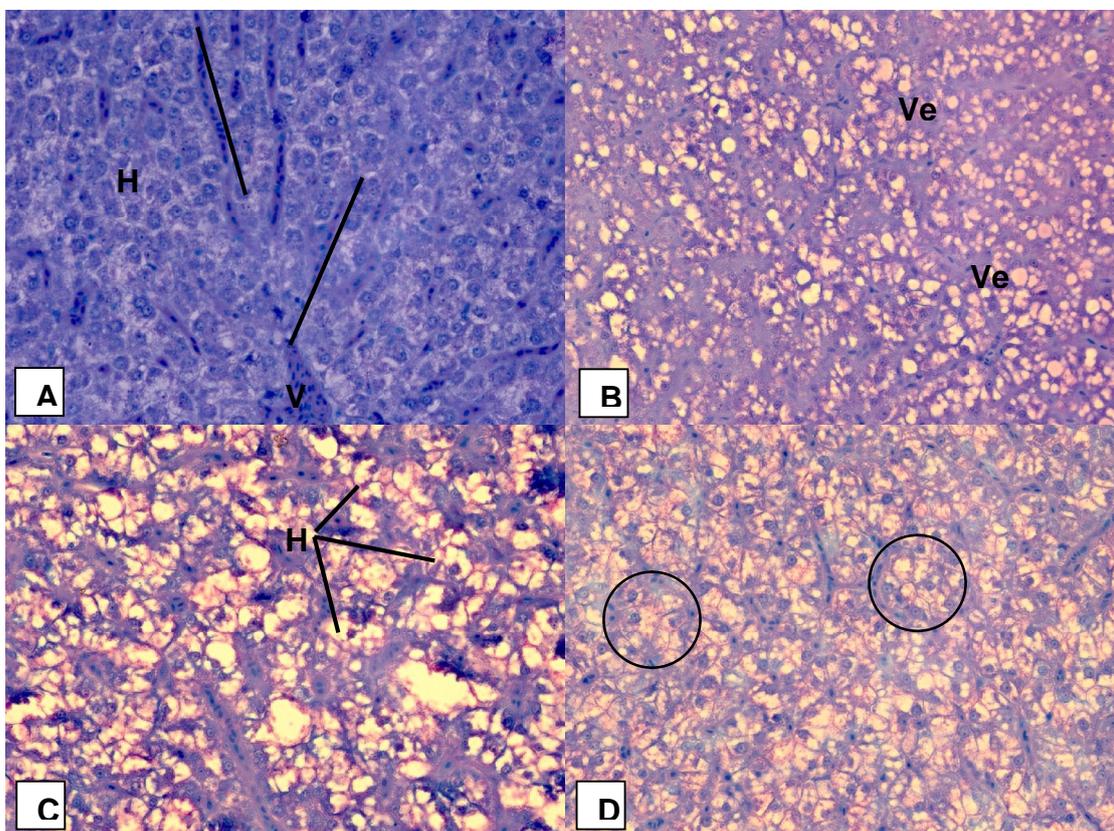


Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo três doses de 17- α -metiltestosterona na dieta. **Em A)** 14 dias após a fase de reversão sexual com dose de 0 mgMT.kg⁻¹ demonstrando o arranjo cordonal dos hepatócitos (traço), hepatócitos (H) e veia central (V). Azul de Toluidina 0,5%, 400x. **Em B)** 21 e 28 dias após a reversão sexual com dose de 30 mgMT.kg⁻¹ - ocorrência de vesículas (Ve) no interior dos hepatócitos. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 400x. **Em C)** Ao término da reversão sexual com dose de 60 mgMT.kg⁻¹- Aumento do volume celular. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 400x. **Em D)** Sete dias após o término da reversão sexual com dose de 60 mgMT.kg⁻¹ - Desarranjo cordonal dos hepatócitos. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%.400x.

Conclusões

A reversão sexual através da adição de 17- α -metiltestosterona deveria ser abolida nos cultivos de tilápia, pois causa danos aos hepatócitos e influencia na saúde dos peixes.

A adição do hormônio 17- α -metiltestosterona na dieta de tilápias na fase de reversão sexual promoveu alterações histológicas no fígado desses peixes, caracterizando intoxicação pelo hormônio, mais grave na dose de 60 mg.kg⁻¹.

Para a reversão sexual, o nível de adição de 30 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma da dieta, por trinta dias, foi considerado o ideal. Pois causou menor desorganização na estrutura histológica do fígado entre os peixes revertidos.

Referências

- Behmer, A.O.; Tolosa, E.M.C.; Freitas-Neto, A.G. (1976) *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. 1.ed. São Paulo, Ed. Edusp/Edart. 239p.
- Boyd, C. Water quality management for ponds fish culture. (1992) In:_____. *Developments in aquaculture and fisheries science*. 9. ed. New York, Elsevier. 482p.
- Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: *Fish Morphology*. Science Publishers. 300p.
- Duarte, K. M. R.; Silva, F. M. S. M.; Meirelles, C. F. (2002) Resíduos de anabolizantes na produção animal: importância e métodos de detecção. *Ciência Rural*, **32**, 731-737.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia culture*. 1.ed. Cambridge, CABI Publishing. 277p.
- Fagerlund, U.H.M., Higgs, D.A., McBride, J.R., Plotnikoff, M.D., Dosanjh, B.S. & Market, J.R. (1983) Implications of varying dietary protein, lipid and 17-alpha-methyltestosterone content on growth and utilization of protein and energy in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kitstch*). *Aquaculture*, **30**, 109-124.
- Gale, W.L.; Fitzpatrick, M.S.; Lucero, M. & Contreras, W.M. (1999) Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture*, **178**, p.349-357.
- Gannam, A.L. & Lovell, R.T. (1991) Effects of feeding 17-alpha-methyltestosterone, 11-ketotestosterone, 17-beta-estradiol and 3,5,3'-triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **92**, p.377-388.
- Green, B.W., Verrica, K.L. & Fitzpatrick, M.S. (1997) Fry and fingerling production. In: *Dynamics of Pond Aquaculture* (Egna, H.S. & Boyd, C.E. ed), pp. 215-243. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Guerrero III, R.D. & Guerrero, L.A. (1988) Feasibility of commercial production of sex-reversed Nile tilapia fingerlings in the Philippines. In: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K. & Maclean, J.L. (eds). *Proceedings of the Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. ICLARM Conference Proceedings, 15, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and ICLARM, Manila, Philippines, 183-186.
- Guerrero III, R.D. & Guerrero, L.A. (1997) Effects of androstenedione and methyltestosterone on *Oreochromis niloticus* fry treated for sex reversal in outdoor net enclosure. In: International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 4, Orlando, Proceedings..., **12**, p.772-777.
- Guerrero III, R.D. & Shelton, W.L. (1974) An aceto-carmin squash technique for sexing juvenile fishes. *The Progressive Fish-Culturist*, **36**, p.56.
- Kendall, M.W. & Hawkins, W.E. (1975) Hepatic morphology and acid phosphatase localization in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, **32**, p. 1459-65.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. 1.ed. Jundiaí, SP, F. Kubitza. 289p.
- Mainardes-Pinto, C.S.R.; Fenerich-Verani, N.; Campos, B.E.S. & Silva, A.L. (2000) Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes raças e diferentes doses de 17 α -metiltestosterona. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **29**, p.655-659.
- Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M.M. Boscolo, W.R. (2004) Uso da *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, **41**, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004] (CD-ROM)

- Patterson, R. L. & SALTER, L. J. (1985) Anabolic agents and meat quality: a review. *Meat Science*, Savoy, **14**, p. 191-220.
- Phelps, R.P., Salazar, G.C., Abe, V. & Argue, B.J. (1995) Sex reversal and nursery growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), free-swimming in earthen ponds. *Aquaculture Research*, **26**, 293-295.
- Popma, T. J. & Phelps, R. P. (1998) Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling production techniques. In: Congresso Sul Americano de Aqüicultura, 1, *Anais...* Recife: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, p.127-145.
- Rani, A & Macintosh, D.J. (1997) An evaluation of the effects of hormone concentration, treatment period, feeding regime and rearing salinity on production of all-male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry using 17- α -methyltestosterone. In: *Tilapia Aquaculture – Proceedings of the IV International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 2, Orlando, FL, USA, p. 791-802.
- Rinchard, J.; Dabrowski, K.; Garcia-Abiado, M. A. & Ottobre, J. (1999) Uptake and depletion of plasma 17- α -methyltestosterone during induction of masculinization in muskellunge (*Esox masquinongy*). In: _____. *Effect on plasma steroids and sex reversal*, **64**, p. 512-525. (Steroids)
- Robbins, R.; Cotran, R.S. (2005) *Patologia - Bases Patológicas das Doenças*. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K. & FAUSTO, N. (Eds) Rio de Janeiro, Elsevier, 1592p.
- Rothbard, S.; Zohar, Y.; Zmora, N.; Sivan, B.L.; Moav, B. & Yaron, Z. (1990) Clearance of 17- α -ethynyltestosterone from muscle of sex-inversed tilapia hybrids treated for growth enhancement with two doses of the androgen. *Aquaculture*, **89**, p.365-376.
- Santos, A.A.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Felizardo, N.N. & Rodrigues, E.L. (2004) Análise histopatológica de fígado de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, **30**, p.141-145.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. (2001) *Statistical Analysis Software User's guide statistics*, 5. ed., Cary, NC, SAS Institute Inc., 956.
- Simone, D.A. (1990) The effects of the synthetic steroid 17-alpha-methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **84**, p.81-93.
- Sipaúba-Tavares, L.H. (1995) *Limnologia aplicada à aqüicultura*. 1. ed. Jaboticabal, FUNEP, 70p.
- Smith, E.S. & Phelps, R.P. (1996) Reproductive efficiency, fry growth, and response to sex reversal of Nile and red tilapia. In: Annual Technical Report, 14, Oregon. *Fourteenth Annual Administrative Report*, Oregon: Pond Dynamics/ Aquaculture Collaborative Research Support Program/ Sustainable Aquaculture for a Secure Future, Oregon State University, Corvallis, Oregon, p.112-119.
- Taylor, W.; Snowball, S. & LESNA, M. (1993) The effects of long-term administration of methyltestosterone on the development of liver lesions in BALB/c mice. *American Journal of Pathology*, **143**, p.211-218.
- Vera-Cruz, E.M.V. & Mair, G.C. (1994) Conditions for effective androgen sex-reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, **122**, 237-248.
- Vicentini, C.A.; Franceschini-Vicentini, I.B.; Bombonato, M.T.S.; Bertolucci, B.; Lima, S.G. & Santos, A.S. (2005) Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, **23**, p.211-216.
- Wassermann, G.J. & Afonso, L.O.B. (2002) Validation of the aceto-carmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Revista Ciência Rural*, **32**, p.113-139.

- Westaby, D., Ogle, S.J., Paradinas, F.J., Randell, J.B., Murray-Lyon, I.M. (1997) Liver damage from long-term methyltestosterone. *Lancet*, **2**, 8032, 262-263.
- Yu, T.C., Sinhubber, R.O., Hendricks, J.D. (1979) Effect of steroid hormones on the growth of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, **16**, p.351-359.
- Zimmermann, S. & Fitzsimmons, K. (2004) Tilapicultura intensiva. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M & Castagnolli, N. *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo, TecArt, 533p.

CAPÍTULO 3

Níveis de proteína bruta em dietas práticas para alevinagem e recria de tilápias do Nilo submetidas ou não à reversão sexual: efeitos no desenvolvimento e estrutura do fígado.

Resumo- Foram estudados os efeitos do hormônio 17- α -metiltestosterona sobre o desempenho produtivo e alterações no fígado nas fases de alevinagem e recria de alevinos de tilápias do Nilo da linhagem tailandesa. O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Jaboticabal, São Paulo. Os alevinos utilizados no experimento foram provenientes da Piscicultura Aquabel, sendo que metade deles foi submetida à reversão sexual por meio da adição de 17- α -metiltestosterona na dieta comercial. Ao chegarem ao Laboratório, os dois grupos de alevinos (revertidos ou não) foram distribuídos em 32 caixas de fibra de vidro de 420 L na densidade de 1 alevino/L. A fase de alevinagem dos peixes foi realizada durante 35 dias, quando foram avaliadas as médias de peso e comprimento no início e final desta fase e calculada a sobrevivência. A fase de recria dos alevinos teve duração de 70 dias. Para o início dessa fase foi realizada contagem de todos os alevinos e ajustou-se a densidade nas caixas para 1 alevino/1,5L. Nessa fase, os alevinos receberam quatro dietas práticas isocalóricas que variavam no teor de proteína bruta: 32, 36, 40 e 44%. Nas duas fases, os alevinos foram alimentados seis vezes ao dia, até a saciedade aparente. Ao final do experimento, foi analisada a proporção de machos. Durante o experimento foram coletadas amostras de fígado dos alevinos para análise histológica. Os alevinos revertidos apresentaram, ao final da fase de alevinagem, maiores médias de peso e comprimento. A sobrevivência foi semelhante para os dois grupos de alevinos. Ao final da fase de recria, os alevinos revertidos apresentaram maiores médias de peso e ganho de peso, mas não houve influência do nível de proteína bruta sobre estes parâmetros. A média de proporção de machos para os peixes revertidos foi maior do que para os não revertidos (87% e 67%, respectivamente). Não foram identificados desarranjos na estrutura do fígado nos peixes não revertidos alimentados com 32% PB.

Palavras chave: tilápia, reversão sexual, alevinagem, recria, desempenho, fígado.

Crude protein level for sex reversed or no sex reversed tilapia fingerlings: performance and liver histology

Abstract- The effects of the addition of 17- α -methyltestosterone in the diet as sex reversal technique were studied in the performance and liver histology of Nile tilapia fingerlings and juveniles. The experiment was carried out in the São Paulo State University, Aquaculture Center, Aquatic Organisms Nutrition Laboratory, Jaboticabal, São Paulo State, Brazil (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W). The fingerlings utilized came from the Aquabel Pisciculture, where half of them were submitted to sex reversal by that technique. At the Laboratory, the two groups of fingerlings, sex reversed or no sex reversed, were randomly distributed into 32 420 L fiber boxes at a density of 1 fish/L. Initial period was carried out during 35 days, where the average weight and length were measured at the initial and the end of this period, and the average weight gain and survival were calculated. The second period was carried out in 70 days. In the beginning of this period, all the fishes were counted and density was adjusted for 1 fish/1.5L. In this period, fishes from the two groups (reversed or no reversed) were fed with four types of practical diets which varied in their crude protein level: 32, 36, 40, and 44%. At the end, the average weight and length were measured and the average weight gain was calculated. Fishes were fed six times per day until apparent satiation at both periods. The reversion effectiveness was analyzed at the end of the experiment. During the experiment liver samples were collected for histology. Sex reversed fishes showed at the end of the initial 30 days higher average weight and length than the no sex reversed ones. Survival of fishes from the two groups was similar. At the end of the experiment, sex reversed fishes showed higher average weight and weight gain. There was no influence from the crude protein level in those parameters. The average of male's proportion for the sex reversed fishes was higher than for the no reversed ones (87% e 67%, respectively). There was no identified alteration in the liver only in the group from the no reversed fishes fed with 32%CP.

Key Words: tilapia, sex reversion, fingerlings, growth performance, liver

Introdução

A tilápia do Nilo é a espécie de peixe mais cultivada no Brasil (IBAMA, 2005). A tailandesa, linhagem que está em primeiro lugar nos cultivos, descende de um grupo de tilápia do Nilo levada do Egito ao Japão, que seguiu para Tailândia e outros países do sudeste asiático. Nestes países, esta linhagem melhorada geneticamente, apresentou melhor desempenho, comportamento mais dócil e melhor adaptação aos cultivos intensivos, principalmente em tanques-rede (Kubitza, 2006). Os primeiros alevinos foram trazidos ao país em 1996. Mais recentemente, novo material genético de tilápia tailandesa foi importado para o Nordeste brasileiro.

O sucesso do cultivo depende da qualidade dos alevinos e sua criação, entre vários fatores. Muitos pontos devem ser considerados na avaliação da qualidade dos alevinos de tilápia, entre eles a eficiência da reversão sexual e o desempenho de cada lote de alevinos recebidos (Kubitza, 2006).

Para vários piscicultores e pesquisadores, o cultivo de lotes monosexo é considerado determinante do sucesso da criação de tilápia (Meurer *et al.*, 2004). A reversão sexual utilizando-se hormônio 17- α -metiltestosterona incorporado à dieta de pós-larvas de tilápia tem sido o método mais utilizado para o cultivo de lotes de alevinos monosexo. Segundo Rothbard *et al.* (1990) e Guerrero III e Guerrero (1997), o hormônio 17- α -metiltestosterona utilizado na dieta é o que demonstra melhores resultados para a reversão sexual. Os piscicultores, em geral, têm relatado melhor peso, comprimento e homogeneidade de lotes de alevinos alimentados com dietas acrescidas de 17- α -metiltestosterona, em relação a lotes que não recebem o hormônio na dieta. Porém, este método tem sido discutido no meio científico porque ainda não se determinaram exatamente as conseqüências desta técnica sobre o ambiente e o organismo do peixe, desde a alevinagem até a engorda. Os produtores e consumidores

vêm preocupando-se com o risco que a utilização hormonal na tilapicultura pode trazer à saúde humana, à saúde do peixe e ao ambiente aquático.

O objetivo deste experimento foi comparar o desempenho de alevinos submetidos ou não à reversão sexual, na fase de alevinagem alimentados com dieta comercial e na fase de recria alimentados com diferentes níveis de proteína bruta na dieta, buscando-se simular o problema de fígado gorduroso que acontece nas pisciculturas. E analisar o perfil histológico hepático dos peixes.

Material e Métodos

Instalações e condições experimentais

O ensaio foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aqüicultura (CAUNESP), Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), Jaboticabal, São Paulo (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W).

Foram utilizadas 32 caixas de fibra de vidro com capacidade de 420 L. As caixas eram abastecidas continuamente por água proveniente de mina com taxa de renovação de aproximadamente 20 vezes ao dia, e dotadas de aeração forçada proveniente de compressor radial, por meio de assopradores e mangueiras plásticas flexíveis com pedra porosa.

Durante o ensaio, a temperatura da água foi aferida duas vezes ao dia (9h30min e 15h30min), aleatoriamente, em duas caixas por tratamento, usando termômetro de bulbo de mercúrio, para controle da água de cultivo. Variáveis físico-químicas da água foram analisadas semanalmente, às 8h00min e às 16h00min, em amostras de duas caixas por tratamento. Foi avaliado o potencial hidrogeniônico (potenciômetro digital-Corning OS-30), o oxigênio dissolvido na água (mg.L^{-1}) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (oxímetro digital-YSI- *Yellow Spring Instruments* 54A) e a amônia total (mg.L^{-1})

(espectrofotômetro). O fotoperíodo no laboratório durante todo o experimento foi de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Material biológico e manejo

Os alevinos de tilápia do Nilo utilizados no ensaio foram provenientes da Piscicultura Aquabel, Fazenda Belmonte, localizada em Rolândia, Paraná. Eram descendentes de um mesmo lote de 500 fêmeas e 150 machos de tilápia do Nilo, linhagem tailandesa. Metade dos alevinos foram revertidos na própria piscicultura, seguindo o manejo de adição de 60 mg.kg^{-1} de $17\text{-}\alpha$ -metiltestosterona na dieta comercial, fornecida oito vezes ao dia, por 38 dias. A composição da dieta utilizada na piscicultura foi: 88% MS, 56% PB, 10% EE, 4% FB, 14% MM 3,6% Ca e 1,5% P, segundo o fabricante.

A fase de alevinagem dos peixes (primeira fase experimental) foi realizada durante 35 dias. Ao chegarem ao LANOVA, os grupos de alevinos revertidos ou não foram distribuídos na densidade de 1 alevino/L nas caixas ao acaso. Nesta fase, a dieta que os alevinos recebiam na piscicultura de origem foi substituída gradualmente por outra dieta comercial cuja composição foi: 87,5% MS, 45% PB, 9% EE, 6% FB, 13% MM, 3% Ca, 1% P, segundo o fabricante.

A fase de recria dos peixes (segunda fase experimental) iniciou-se após a fase de alevinagem (36 dias após o término da reversão sexual) e teve duração de 70 dias. Inicialmente, foi realizada a contagem de todos os alevinos e a biometria de 10% deles. Durante essa biometria, retirou-se 28% dos alevinos (grandes e pequenos) para ajustar a densidade nas caixas para 1 alevino/1,5L, e para que se tivessem lotes mais homogêneos nas caixas, deixando-se 280 alevinos em cada caixa. Foi realizada biometria de 20% dos alevinos após setenta dias do início do arraçamento com as dietas experimentais. Os

peixes foram deixados em suas caixas de origem para serem utilizados em um experimento posteriormente.

Nas duas fases, os alevinos foram alimentados seis vezes ao dia (7h30min, 9h30min, 11h30min, 13h30min, 15h30min e 17h30min), observando-se o consumo da dieta até alcançar-se a saciedade aparente. Para o arraçoamento, a entrada de água era fechada por meia hora.

Todas as caixas foram limpas em dias alternados para retirada das sobras de ração e fezes do fundo das caixas, utilizando-se sifonagem manual com mangueira de borracha, às sete horas da manhã. Nos dias da aferição dos demais parâmetros físico-químicos da água, a análise era realizada antes das caixas serem sifonadas.

Na realização das biometrias, os alevinos eram anestesiados em uma solução de 0,1 g/L de benzocaína e obtidos o peso (g) utilizando-se balança digital (GEHAKA-B6-1000) e o comprimento (mm) utilizando-se paquímetro digital de 0 a 150 mm (UUSTOOLS - Professional - MT 00855).

Delineamento experimental

A fase de alevinagem foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos e dezesseis repetições cada. Os tratamentos corresponderam aos peixes não revertidos (NR) e revertidos (RV).

A fase de recria foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com oito tratamentos em esquema fatorial 2 X 4, correspondente aos dois lotes de peixes (não revertidos e revertidos) e aos quatro tipos de dietas (32; 36; 40; 44; % PB), com quatro repetições cada. Os tratamentos foram:

- NR32- alevinos não revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB;
- NR36- alevinos não revertidos e alimentados com a dieta contendo 36% PB;
- NR40- alevinos não revertidos e alimentados com a dieta contendo 40% PB;

- NR44- alevinos não revertidos e alimentados com a dieta contendo 44% PB;
- RV32- alevinos revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB;
- RV36- alevinos revertidos e alimentados com a dieta contendo 36% PB;
- RV40- alevinos revertidos e alimentados com a dieta contendo 40% PB;
- RV44- alevinos revertidos e alimentados com a dieta contendo 44% PB.

Dietas experimentais utilizadas na fase de crescimento dos alevinos

As análises dos ingredientes e das rações foram realizadas no LANOA do CAUNESP, segundo a metodologia descrita pela A.O.A.C. (2000). As dietas experimentais isocalóricas foram formuladas de forma a apresentarem 32, 36, 40 e 44% de proteína bruta (PB) com 44, 40, 36 e 32% de extrativo não nitrogenado (ENN), respectivamente. Os níveis de PB e os ingredientes que foram utilizados foram escolhidos procurando-se simular as formulações das rações comerciais. A composição percentual e químico-bromatológica calculada e analisada das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas			
	32% PB	36% PB	40% PB	44% PB
Milho	47,30	41,00	32,00	24,60
Farelo de Trigo	8,80	7,00	7,00	6,20
Farelo de Soja	16,10	20,00	25,50	30,00
Óleo de soja	1,50	1,40	1,50	1,50
Protenose® (66% PB)	3,50	5,00	5,50	6,00
Farinha de peixe (70% PB)	17,80	19,60	22,50	24,50
Farinha de sangue (89% PB)	4,00	5,00	5,00	6,20
Suplemento Vitamínico e Mineral ⁽¹⁾	1,00	1,00	1,00	1,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição bromatológica ⁽²⁾				
Matéria seca (%)	88,50	88,63	88,84	89,01
Proteína bruta (%)	32,00	36,01	40,00	44,00
Extrato etéreo (%)	6,60	6,39	6,40	6,27
Carboidratos totais (%)	47,24	43,14	38,65	34,43
Matéria mineral (%)	4,19	4,58	5,10	5,48
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	3981	3969	4007	3985
Composição bromatológica ⁽³⁾				
Matéria seca (%)	92,37	92,91	92,55	92,99
Proteína bruta (%)	33,18	36,70	40,16	44,25
Extrato etéreo (%)	8,02	6,48	6,12	7,48
Carboidratos totais (%)	47,49	45,72	41,50	36,99
Matéria mineral (%)	3,68	4,01	4,77	4,27
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	4599	4580	4567	4738

PB= proteína bruta

(1) Níveis de garantia por kg de produto: vit A 860.000 UI; vitamina D3 240.000 UI; vitamina E 10.500 UI; vitamina K3 1400 mg; vitamina B1 2100 mg; vitamina B2 2150 mg; vitamina B6 2100 mg; vitamina B12 2200 mcg; Niacina 10.000mg; Pantotenato de calcio 5600 mg; Ácido fólico 580 mg; Biotina 17mg; vitamina C 18000 mg; metionina 100.000 mg; colina 60.000 mg; cobre 1800 mg manganês 5000 mg; zinco 8000 mg; iodo 90 mg; cobalto 55 mg; selenio 30 mg; antioxidante 10000 mg.

(2) Composição calculada a partir da composição analisada dos ingredientes

(3) Composição analisada das rações

As dietas foram preparadas na fábrica de ração do CAUNESP misturando-se os ingredientes em um misturador horizontal, para posteriormente ser realizada a granulação em peletizadora. O tamanho dos grânulos foi sendo adaptado ao tamanho dos peixes, a cada processamento. Para o arraçoamento, as dietas foram sorteadas ao acaso nos grupos de peixes (revertidos ou não revertidos).

Parâmetros avaliados

Na fase de alevinagem, foram avaliadas as médias de peso e comprimento no início e final dos 35 dias, e calculada a sobrevivência (%) para os dois grupos de alevinos [Sob= (n° final de peixes/ n° inicial de peixes) x 100].

Na fase de recria, foram avaliadas as médias de peso no início e no final e o comprimento no final dos 70 dias de arraçoamento com as dietas experimentais. Foi calculado também o ganho de peso total. Foi determinada a proporção de machos (%) [%machos= (n° machos /n° total de peixes sexados) x 100].

Identificação do sexo dos alevinos

Ao final da fase de recria dos alevinos, oito peixes por caixa foram insensibilizados, mortos em gelo moído e conservados no álcool etílico para identificação do sexo. A proporção de machos foi determinada pela análise microscópica das gônadas e identificação do sexo dos alevinos, utilizando-se a técnica do acetato-carmim, descrita por Guerrero e Shelton (1974), e validada para alevinos de tilápia do Nilo por Wassermann e Afonso (2002). As gônadas dos alevinos eram retiradas por abertura da cavidade abdominal pelo ventre, e eram colocadas em lâminas, coradas com acetato carmim a 45%, comprimidas levemente com lamínula e, posteriormente, examinadas ao microscópio ótico.

Coleta e análise histológica do fígado dos alevinos

Durante a fase de recria dos alevinos, foi coletado o fígado de quatro alevinos de cada tratamento, sorteando-se as caixas de onde seriam retirados os alevinos, no início do fornecimento das rações e após 30, 50 e 70 dias. Inicialmente, os alevinos foram insensibilizados e mortos em gelo moído, foram cortadas as cabeças e as caudas e, após a abertura da cavidade celomática, foi retirado o fígado. Estes foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato (pH 7,2; 0,1 M), por 24 horas. Após a

fixação, procederam-se as oito lavagens, diariamente, em tampão fosfato (pH 7,2; 0,1 M) para retirada da solução fixadora. A seguir, o material foi mantido em álcool 80° para posterior realização da análise histológica. A inclusão do material foi realizada em historesina (Historesin® - Leica). A microtomia foi realizada em micrótomo automático (Leica-RM2155, Germany) com a obtenção de cortes com três µm de espessura. A seguir, foi realizada a coloração em Hematoxilina – Eosina e Azul de Toluidina 0,5%/ Fucsina básica 0,5% (Behmer, 1976). Os cortes histológicos foram analisados e fotomicrografados com fotomicroscópio Leica em software gwin.

Análise Estatística

Os dados resultantes do experimento foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. Nas análises em que houve diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2001).

Resultados e Discussão

Condições ambientais de cultivo

Os parâmetros físico-químicos médios da água durante a fase de alevinagem e a fase de recria dos peixes são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o experimento

Parâmetro	Fase de alevinagem	Fase de recria
Temperatura/ manhã (°C)	25,61 ± 0,96	19,80 ± 1,54
Temperatura/ tarde (°C)	26,52 ± 1,01	21,19 ± 1,70
Oxigênio dissolvido/ manhã (mg/l)	2,66 ± 0,96	5,43 ± 1,10
Oxigênio dissolvido/ tarde (mg/L)	1,43 ± 0,54	3,55 ± 1,48
pH/ manhã	6,74 ± 0,10	6,44 ± 0,25
pH/ tarde	6,74 ± 0,03	6,46 ± 0,16
Amônia total (mg/L)	2,75 ± 0,76	1,14 ± 0,36

A diferença nas temperaturas pela manhã e à tarde ocorrida entre as fases do experimento deveu-se a uma necessidade de trocar a fonte de suprimento de água no laboratório, de água proveniente de mina para água proveniente de represa.

El-Sayed (2006) considerou a faixa de temperatura de 20 a 35°C para o desenvolvimento normal, reprodução e crescimento da tilápia. As temperaturas pela manhã e à tarde nas duas fases do experimento estiveram dentro destes limites. Mas, esse mesmo autor considerou a temperatura de 28°C essencial para se obter o crescimento máximo na fase inicial de vida da tilápia. As temperaturas pela manhã e à tarde nas duas fases do experimento estiveram abaixo da recomendada. Porém, segundo Ribeiro (2001) somente temperaturas abaixo de 12°C podem causar mortalidade.

A temperatura de conforto para o cultivo da tilápia deve estar entre 27 e 32°C, a faixa de pH considerada boa para tilápia é entre 6,0 e 8,5 e a concentração de amônia total adequada deve estar abaixo de 0,24 mg.L⁻¹ (Kubitza, 2000). Pelas recomendações do autor, somente o pH manteve-se satisfatório para a tilápia. Porém, segundo Watanabe *et al.* (2002) a espécie tolera condições ambientais adversas, como baixo oxigênio dissolvido (1,0 mg/L), altos níveis de amônia (2,4 a 3,4 mg/L de amônia não ionizada), pH entre 5,0 e 11,0.

Desempenho produtivo na fase de alevinagem

Os resultados estatísticos dos parâmetros analisados na fase de alevinagem são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de F e médias de peso, comprimento e sobrevivência de tilápia do Nilo revertidas ou não revertidas e alimentadas com dieta comercial durante 35 dias de alevinagem

Estatísticas	Peso inicial (g)	Comprimento inicial (mm)	Peso final (g)	Comprimento final (mm)	Sobrevivência (%)
F p/ tratamentos	111,25**	111,38**	26,8**	26,37**	0,02 ^{ns}
CV (%)	40,62	13,06	13,11	6,94	2,90
Médias p/ os alevinos:					
Não revertidos	0,28 ± 0,15 b ⁽¹⁾	27,00 ± 4,13 b	3,42 ± 0,56 b	55,31 ± 3,09 b	91,98 ± 3,08
Revertidos	0,46 ± 0,15 a	31,63 ± 3,50 a	4,36 ± 0,46 a	62,75 ± 4,90 a	92,10 ± 2,19

** significativo (P<0,01); ns- não significativo

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

O peso e o comprimento no início da fase de alevinagem foram maiores ($P < 0,01$) para os peixes revertidos, indicando que os alevinos vieram da piscicultura com diferença no peso entre os grupos. Essa diferença persistiu até o final dessa fase como mostra o peso e comprimento aos 35 dias, maiores ($P < 0,01$) para os peixes revertidos. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre o lote de peixes não revertidos e revertidos quanto à sobrevivência, que se mostrou alta.

Os alevinos de tilápia devem medir no mínimo 3 cm, ao final da reversão sexual com o hormônio 17- α -metiltestosterona, aos 28 dias de vida (Kubitza, 2006). No início da fase de alevinagem, os peixes revertidos apresentavam comprimento semelhante ao indicado pelo autor e os peixes não revertidos eram menores.

Leonhardt (1997), em um experimento comparando peso e comprimento de alevinos de tilápia entre grupos não revertidos e revertidos, encontrou peso e comprimento de 0,33 g e 2,53 cm para os não revertidos e 0,34 g e 2,65 cm para os revertidos, após 28 dias de cultivo. Semelhantes médias de peso e comprimento no início da fase de alevinagem no presente ensaio foram encontrados, 0,28 g e 2,70 cm para o lote de alevinos não revertidos e 0,46 g e 3,16 cm para o lote de alevinos revertidos.

Segundo Patterson & Salter (1985), o hormônio 17- α -metiltestosterona (MT), esteróide sintético, é considerado substância anabolizante biologicamente exógena. Os anabolizantes são substâncias químicas que aumentam o acúmulo de nutrientes no organismo animal, como o nitrogênio protéico fornecido pela proteína da dieta, aumentando a síntese protéica e aumento de massa muscular pelo animal, tornando-se substância química residual (Duarte *et al.*, 2002). Segundo Rinchar *et al.* (1999) o efeito anabolizante da metiltestosterona depende do estágio de desenvolvimento, tempo de administração do hormônio e fatores nutricionais.

Os maiores peso e comprimento dos alevinos revertidos durante a alevinagem podem ser devido a estes alevinos terem chegado ao laboratório, maiores que os não revertidos.

No presente experimento, não houve diferença para a sobrevivência dos dois grupos, ao contrário do que é relatado pelos piscicultores, que afirmam maiores resistência e sobrevivência de lotes de alevinos que passaram pela reversão por meio de administração de MT.

Vários autores encontraram resultados discordantes quanto ao peso de alevinos revertidos por meio da utilização da MT adicionada à dieta. Simone (1990) encontrou menores pesos para os alevinos que receberam o hormônio, em relação aos que não receberam. Mainardes-Pinto *et al.* (2000) mostraram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos com testosterona em tilápia do Nilo, com relação ao ganho de peso.

Desempenho produtivo na fase de recria

Os resultados estatísticos dos parâmetros analisados na fase de recria dos alevinos são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho de alevinos de tilápia do Nilo revertidos ou não revertidos, alimentados com dietas práticas contendo níveis de proteína bruta durante 70 dias de recria (dos 36 aos 105 dias de idade)

Estatísticas	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganho de peso (g)	Comprimento (cm)
F p/ Rev	31,38**	29,03**	20,66**	44,61**
F p/ PB	2,53 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,83 ^{ns}	1,55 ^{ns}
F p/ interação Rev x PB	1,19 ^{ns}	2,51 ^{ns}	2,77 ^{ns}	3,06*
CV (%)	12,12	10,56	11,97	3,28
Médias para:				
Alevinos NRV	3,42 ± 0,56 b ⁽¹⁾	19,06 ± 2,09 b	15,63 ± 1,90 b	9,74 ± 0,33
Alevinos RV	4,36 ± 0,46 a	23,32 ± 2,66 a	18,96 ± 2,52 a	10,53 ± 0,41
Médias para dietas com:				
32% PB	3,54 ± 0,57	20,39 ± 2,33	16,85 ± 2,11	9,98 ± 0,35
36% PB	4,17 ± 0,63	20,93 ± 1,75	16,75 ± 1,47	10,06 ± 0,37
40% PB	3,97 ± 0,58	22,18 ± 4,38	18,21 ± 3,91	10,31 ± 0,69
44% PB	3,89 ± 0,90	21,25 ± 4,00	17,36 ± 3,25	10,19 ± 0,69

Rev = reversão; PB = proteína bruta; NRV = não revertidos; RV = revertidos

(¹) Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05);

Houve diferença significativa (P<0,01) para as médias de peso inicial e peso aos 70 dias e a média de ganho de peso total na fase de crescimento dos alevinos. Estes parâmetros foram maiores (P<0,05) para os peixes revertidos. Não houve diferença significativa (P>0,05) entre os níveis de proteína bruta na dieta sobre os parâmetros citados (Tabela 4).

Houve interação (P<0,05) entre os efeitos da reversão sexual e nível de proteína na dieta sobre as médias de comprimento total ao final da fase de crescimento dos alevinos (Tabela 4).

As médias de comprimento dos alevinos após 70 dias de recria são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5. Médias de comprimento (cm) de alevinos de tilápia do Nilo revertidos ou não revertidos, alimentados com dietas práticas contendo de proteína bruta após 70 dias de recria

Alevinos	Níveis de proteína na dieta			
	32%	36%	40%	44%
Não revertidos	9,83 ± 0,34 Aa ⁽¹⁾	9,76 ± 0,14 Aa	9,79 ± 0,46 Ab	9,58 ± 0,40 Ab
Revertidos	10,12 ± 0,35 Ba	10,37 ± 0,22 Aa	10,83 ± 0,44 Aa	10,78 ± 0,09 Aa

(1) Médias seguidas de mesma letra, minúsculas para comparações na vertical e maiúsculas para comparações na horizontal não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Para os alevinos não revertidos, não ocorreu diferença (P>0,05) quanto ao comprimento entre os níveis de proteína na dieta. Para os alevinos revertidos, os níveis a partir de 36% PB levaram a maiores médias (P<0,05) de comprimento que o nível de 32%PB. Para os alevinos alimentados com 40 ou 44% PB na dieta, os revertidos apresentaram a maior média (P<0,05) de comprimento ao final da recria.

O maior ganho de peso dos alevinos revertidos em relação aos não revertidos reflete o maior peso inicial desde o início do experimento e início da fase de recria, e pode ser atribuído à interferência da MT naquela fase.

Leonhardt (1997), após 97 dias de cultivo de alevinos de tilápia não revertidos e revertidos, encontrou peso médio de 21,20 g e comprimento médio de 10,83 cm no grupo de peixes não revertidos e, peso médio de 33,78 g e comprimento médio de 12,59 cm no grupo de peixes revertidos. No presente experimento, foi encontrado peso médio de 19,06 g e o maior comprimento médio de 9,83 cm e peso médio de 23,32 g e o maior comprimento médio de 10,83 cm para os peixes não revertidos (Tabelas 4 e 5). Considerando que no presente experimento, o período total de alevinagem foi de 105 dias, semelhante ao período estudado pelo autor e que hoje a tilápia é melhorada geneticamente, os resultados encontrados para os peixes revertidos foram baixos em relação aos encontrados pelo autor.

Resultados de proporções de machos

O resultado da análise estatística das proporções de machos analisadas ao final da fase de crescimento dos alevinos é mostrado na Tabela 6.

Tabela 6. Valores de F e médias de proporção de machos de lotes de alevinos de tilápia do Nilo, submetidos ou não à reversão sexual

Estatísticas	Proporção de Machos (%)
F para reversão	8,29**
CV (%)	24,93
Médias para:	
Alevinos não revertidos	67,19 ± 20,85 b ⁽¹⁾
Alevinos revertidos	86,72 ± 13,24 a

** significativo (P<0,01)

(1) Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

O lote tratado com hormônio para a reversão sexual apresentou maior (P<0,01) proporção de machos. A proporção de machos no grupo revertido esteve entre 73,48 e 99,96%, semelhantes a valores encontrados por diversos autores. Smith e Phelps (1997) obtiveram 82 a 92% de machos com 60 mg MT.kg⁻¹ da dieta por 28 dias. Gale *et al.* (1999) em 30 dias alimentando alevinos com 60mg MT.kg⁻¹ na dieta encontraram 92% de machos. Mainardes-Pinto *et al.* (2000), trabalhando com dois tipos de dieta comercial, encontraram 89 e 92% de machos para tilápias alimentadas com 30mg MT.kg⁻¹ da dieta por 45 dias e, 99 e 98% de machos de tilápias alimentadas com 60mg MT.kg⁻¹ da dieta por 45 dias.

Histologia de fígado

As amostras de fígados dos alevinos mostraram-se semelhantes quanto à histologia nos tempos avaliados. Na análise histológica, o fígado dos alevinos não revertidos e alimentados com dieta com 32%PB (NR32) apresentou os hepatócitos arredondados, com citoplasma claro e núcleo basófilo e dispostos em arranjo cordonal em torno dos capilares sinusóides. Foi possível identificar a presença de hepatopâncreas entremeado ao tecido hepático. O fígado dos peixes desse tratamento foi considerado sem anormalidades histológicas. Os resultados estão de acordo com a descrição histológica do fígado da tilápia do Nilo (Vicentini *et al.*, 2005).

Os resultados das análises histológicas dos demais grupos de peixes permitiram afirmar que, tanto o fato de os alevinos terem sido revertidos quanto o maior teor de proteína na dieta, causaram desorganização na estrutura do tecido hepático. Foi identificado aumento de volume dos hepatócitos devido ao aumento nas vesículas presentes no interior do citoplasma, assim como aumento na congestão sanguínea nos capilares sinusóides, que são sinais de acúmulo de substâncias no interior das células hepáticas, causado por alteração no metabolismo celular.

No tecido hepático dos alevinos não revertidos e alimentados com a dieta contendo 36%PB (NR36), ocorreu aumento do volume dos hepatócitos e congestão sanguínea no interior dos capilares sinusóides (Figura 1A), mostrando já os efeitos deletérios do aporte excessivo de proteína na dieta pela sobrecarga dos capilares que provocam o desarranjo em forma de cordão dos hepatócitos. Os alevinos não revertidos e alimentados com dietas contendo 40 e 44% de PB (NR40 e NR44) apresentaram amostras de fígado com desarranjo na organização cordonal e aumento de volume dos hepatócitos e presença de vesículas no interior dos hepatócitos em algumas regiões (Figura 1B).

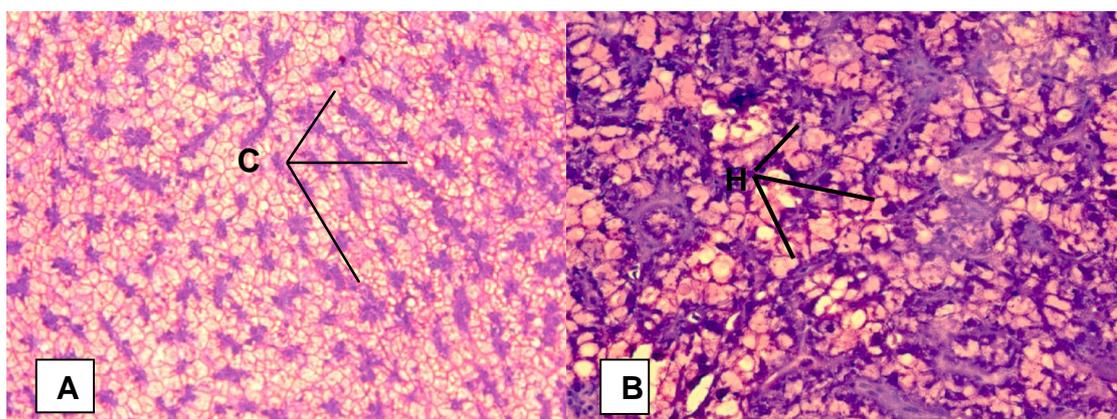


Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo não revertidas e alimentadas com dietas com níveis de proteína bruta. **Em A)** Tratamento NR36 demonstrando congestão sanguínea (C) no interior dos capilares sinusóides. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 200x. **Em B)** Tratamentos NR40 e NR44 com aumento do volume dos hepatócitos (H) e desarranjo cordonal. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x.

Nas amostragens realizadas, o fígado dos alevinos revertidos e alimentados com dieta com 32%PB (RV32) apresentou desarranjo na estrutura cordonal dos hepatócitos em algumas regiões. Neste tratamento ocorreu aumento no volume dos hepatócitos e congestão sangüínea no interior dos capilares sinusóides (Figura 2A). No tratamento com alevinos revertidos e alimentados com 36%PB (RV36) ocorreu aumento do volume dos hepatócitos e congestão sangüínea no interior dos capilares sinusóides. Nos tratamentos com alevinos revertidos e com dietas de 40 e 44% de PB (RV40 e RV44) ocorreu desarranjo na organização cordonal dos hepatócitos e a congestão sangüínea no interior dos capilares sinusóides tornou-se mais evidente em regiões (Figura 2B).

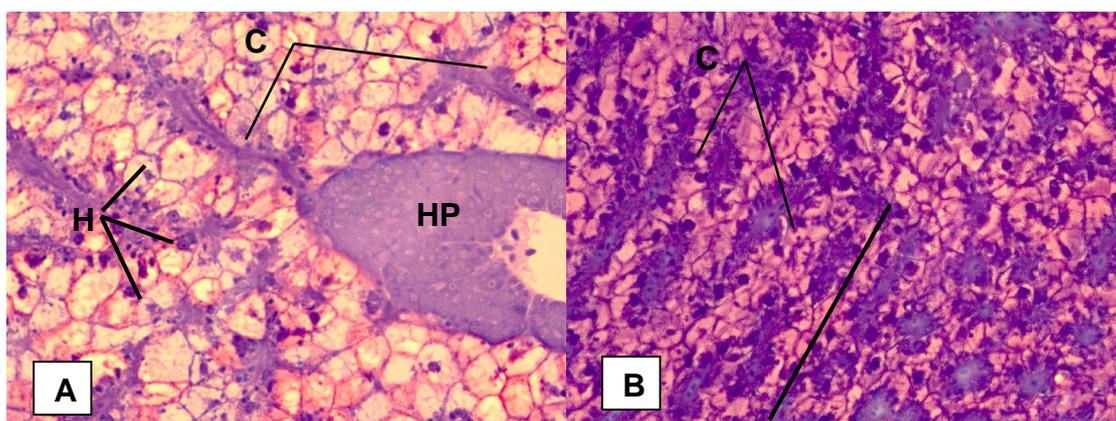


Figura 2. Fotomicrografia de fígado de tilápias do Nilo revertidas e alimentadas com dietas com níveis de proteína bruta. **Em A)** Tratamento RV32 demonstrando congestão sangüínea (C) no interior dos capilares sinusóides e aumento do volume dos hepatócitos (H) e hepatopâncreas (HP). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 400x. **Em B)** Tratamento RV44 com desarranjo cordonal (traço) e congestão sangüínea dos capilares sinusóides (C). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x.

Santos *et al.* (2004) avaliaram a histopatologia de fígados de *O. niloticus* para o monitoramento de contaminação ambiental e dentre as alterações encontradas estavam o aumento da vacuolização citoplasmática. Essas vacuolizações citoplasmáticas indicam a existência de regiões com provável concentração de lipídeos e glicogênio ou a combinação de agentes tóxicos com lipídeos intra-citoplasmáticos. O acúmulo de lipídeos e a diminuição de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos prejudicam suas

atividades metabólicas. Os autores concluíram que, provavelmente, as alterações encontradas estivessem relacionadas à ação de xenobióticos presentes na água.

Robbins & Cotran (2005) afirmaram que o fígado dos peixes, à semelhança de todos os outros vertebrados, é um órgão vital, responsável pela acumulação, biotransformação e excreção de compostos químicos estranhos ao organismo. O fígado pode apresentar diferentes formas de hepatodistrofias relacionadas a processos tóxicos e suas extensão e gravidade dependem do tipo, duração e severidade da agressão e do estado fisiológico da célula envolvida.

No fígado de alevinos deste experimento, notou-se maior severidade nas alterações histológicas nos peixes revertidos e nos que receberam dieta com os maiores teores de proteína.

Conclusões

Os resultados observados nas condições experimentais justificam as seguintes conclusões:

- 1) O nível de 32% de proteína bruta na dieta permite desempenho satisfatório dos alevinos, tendo sido revertidos ou não.
- 2) Apenas alevinos não revertidos e alimentados com 32%PB na dieta têm preservada a estrutura do fígado.
- 3) A reversão sexual e/ou o alto nível de proteína nas dietas levam a alterações histológicas no tecido hepático, sendo mais severas com os dois fatores combinados.

Referências

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Gaithersburg, MD, USA, AOAC Inc.
- Behmer, A.O.; Tolosa, E.M.C.; Freitas-Neto, A.G. (1976) *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. 1.ed. São Paulo, Ed. Edusp/Edart. 239p.
- Duarte, K. M. R.; Silva, F. M. S. M.; Meirelles, C. F. (2002) Resíduos de anabolizantes na produção animal: importância e métodos de detecção. *Ciência Rural*, **32**, 731-737.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia culture*. 1.ed. Cambridge, CABI Publishing. 277p.
- Gale, W.L.; Fitzpatrick, M.S.; Lucero, M. & Contreras, W.M. (1999) Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture*, **178**, p.349-357.
- Guerrero III, R.D. & Guerrero, L.A. (1997) Effects of androstenedione and methyltestosterone on *Oreochromis niloticus* fry treated for sex reversal in outdoor net enclosure. In: International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 4, Orlando, Proceedings..., **12**, p.772-777.
- Guerrero III, R.D. & Shelton, W.L. (1974) An aceto-carminé squash technique for sexing juvenile fishes. *The Progressive Fish-Culturist*, **36**, p.56.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2005). *Estatística da Pesca – 2004 - Brasil*. Disponível em <[http:// 200. 198. 202. 145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf](http://200.198.202.145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf)> Acesso em 27/10/ 2008.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. 1.ed. Jundiaí, SP, F. Kubitza. 289p.
- Kubitza, F. (2006) Questões frequentes dos produtores sobre a qualidade dos alevinos de tilápia. *Panorama da Aqüicultura*, **16**, p. 14-23.
- Leonhardt, J. H. (1997) *Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757)*. Jaboticabal: Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, 1997. 141p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista.
- Mainardes-Pinto, C.S.R.; Fenerich-Verani, N.; Campos, B.E.S. & Silva, A.L. (2000) Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metiltesterona. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **29**, p.655-659.

- Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M.M. Boscolo, W.R. (2004) Uso da *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, **41**, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004] (CD-ROM)
- Patterson, R. L. & Salter, L. J. (1985) Anabolic agents and meat quality: a review. *Meat Science*, Savoy, **14**, p. 191-220.
- Popma, T. J. & Green, B. W. (1990) *Manual de Production Acuicola. Reversion Sexual de Tilapia em Lagunas de Tierra*. Association Americana de Soya. 34p.
- Rinchard, J.; Dabrowski, K.; Garcia-Abiado, M. A. & Ottobre, J. (1999) Uptake and depletion of plasma 17- α -methyltestosterone during induction of masculinization in muskellunge (*Esox masquinongy*). In: _____. *Effect on plasma steroids and sex reversal*, **64**, p. 512-525. (Steroids)
- Robbins, R.; Cotran, R.S. (2005) *Patologia - Bases Patológicas das Doenças*. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K. & FAUSTO, N. (Eds) Rio de Janeiro, Elsevier, 1592p.
- Rothbard, S.; Zohar, Y.; Zmora, N.; Sivan, B.L.; Moav, B. & Yaron, Z. (1990) Clearance of 17- α -ethynyltestosterone from muscle of sex-inversed tilapia hybrids treated for growth enhancement with two doses of the androgen. *Aquaculture*, **89**, p.365-376.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. (2001) *Statistical Analysis Software User's guide statistics*, 5. ed., Cary, NC, SAS Institute Inc., 956.
- Santos, A.A.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Felizardo, N.N. & Rodrigues, E.L. (2004) Análise histopatológica de fígado de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, **30**, p.141-145.
- Simone, D.A. (1990) The effects of the synthetic steroid 17-alpha-methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **84**, p.81-93.
- Smith, E.S. & Phelps, R.P. (1996) Reproductive efficiency, fry growth, and response to sex reversal of Nile and red tilapia. In: Annual Technical Report, 14, Oregon. *Fourteenth Annual Administrative Report*, Oregon: Pond Dynamics/ Aquaculture Collaborative Research Support Program/ Sustainable Aquaculture for a Secure Future, Oregon State University, Corvallis, Oregon, p.112-119.
- Vicentini, C.A.; Franceschini-Vicentini, I.B.; Bombonato, M.T.S.; Bertolucci, B.; Lima, S.G. & Santos, A.S. (2005) Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, **23**, p.211-216.

- Wassermann, G.J. & Afonso, L.O.B. (2002) Validation of the aceto-carmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Revista Ciência Rural*, **32**, p.113-139.
- Watanabe, W. O.; Losordo, T. M.; Fitzsimmons, K. (2002) Tilapia production system in the Americas: technological advances, trends, and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n. 3-4, p. 465-498. 2002

CAPÍTULO 4

Desempenho e histologia hepática de tilápias do Nilo de lotes sexualmente revertidos ou não cultivados em tanques-rede com dietas contendo dois teores protéicos

Resumo- Um experimento foi conduzido em 12 tanques-rede de 4 m³ instalados em uma represa de 1800 m² e profundidade média de 2 m, localizada na Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, Jaboticabal, São Paulo. Lotes de 200 tilápias do Nilo com peso médio inicial de 127 gramas foram colocados em cada tanque-rede, usando dois grupos de peixes, revertidos ou não revertidos por meio da utilização do hormônio 17- α -metiltestosterona. Os peixes foram alimentados com duas dietas isocalóricas (4000 kcal de EB.kg⁻¹) contendo 28 ou 32% PB. As tilápias eram arraçadas cinco vezes ao dia, até a saciedade aparente. Não houve interação entre os fatores reversão sexual e nível de proteína na dieta para as médias de peso final (PF), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), comprimento final (CF) e sobrevivência (SO). Não houve diferença entre os peixes não revertidos e revertidos quanto a PF, GP, CF e SO. Porém, os peixes não revertidos apresentaram pior média de conversão alimentar (1,83) que os peixes revertidos (1,76). Quanto ao teor de proteína na dieta, as melhores médias de PF, GP, CA foram apresentadas com 32% PB. Não houve diferença quanto ao CF e a SO. A proporção de machos no grupo de peixes não revertidos foi de 83,9% e no grupo de peixes revertidos foi de 97,4%. Concluiu-se que os peixes não revertidos mostraram desempenho produtivo semelhante e a mesma sobrevivência que os peixes revertidos. O nível de 32% PB na dieta possibilitou melhor desempenho para a tilápia, em ambos os grupos, nas condições estudadas. Alterações histológicas no tecido hepático como desarranjo da disposição cordonal, aumento de volume e de vesículas nos hepatócitos foram encontradas nos peixes revertidos. Porém, foram mais acentuadas no grupo de peixes revertidos e alimentados com 32% PB na dieta.

Palavras chave: tilapia, reversão sexual, tanques-rede, proteína, fígado

Performance and liver histology of Nile tilapia sex reversed or not sex reversed reared in cages and fed with two different protein level in the diet

Abstract- The intensive culture of tilapia in cages is increasing very fast. This research was carried out with the aim to find out the fat liver in tilapias and its possible causes. An experiment was carried out with sex reversed or not sex reversed Nile tilapia cultivated in 12 cages with 4 m³ allocated into a 1800 m² pond at São Paulo State University, Aquaculture Center, Jaboticabal, SP, Brazil (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W). First, groups of 200 fishes with average weight of 127g were randomly distributed in the cages by the two groups (sex reversed or not sex reversed). Fishes were fed two types of diets, which were isoenergetics (4000 kcal gross energy.kg⁻¹) with two protein levels: 28 or 32% of crude protein (CP). Fishes were fed five times per day until the apparent satiation. There was no interaction between the factors of sex reversal and level of protein for the mean final weight (FW), total weight gain (WG), feed conversion (FC), final total length (FL) and survival (SV). For the sex reversal as variation factor, there was no difference for FW, WG, FL and SV between sex reversed and not sex reversed fishes. Not sex reversed fishes showed the worst FC (1.83) than the sex reversed ones (1.76). Fishes fed 32% CP showed the best FW, WG and FC, but there was no difference for FL and SV. The male proportion for not sex reversed tilapia was 83.9% and for sex reversed tilapia was 97.4%. It was concluded that not sex reversed tilapia had the equal performance that the sex reversed ones. The level of 32% CP in the diet let the best performance for the tilapia for the two groups, in the conditions of this study. Histological alterations in the liver of sex reversed fishes were visualized. The alterations were more accentuated in the liver of the sex reversed tilapia fed 32%CP.

Key Words: tilapia, sex reversion, 17- α -methyltestosterone, cages, protein, liver

Introdução

A tilápia do Nilo apresenta atributos que a torna uma das melhores espécies de peixe para a aquicultura, principalmente nos países em desenvolvimento: rápido crescimento, tolerância a ampla faixa de condições ambientais (temperatura, salinidade, baixo oxigênio dissolvido), resistência a estresse e doenças, habilidade de reprodução em cativeiro, baixo intervalo de gerações, alimentação no mais baixo nível trófico e aceitação de alimentos artificiais imediatamente após a absorção do saco vitelino (El-Sayed, 2006).

O cultivo racional de tilápia do Nilo está difundido como o principal no mundo e Brasil. No nosso país a produção de tilápia já atingiu 69.078 toneladas, representando 38,4% da produção brasileira total de peixes cultivados (IBAMA, 2005). As perspectivas são de que o Brasil se torne o maior produtor de tilápia cultivada do mundo.

O sistema de cultivo em tanques-rede é o que tem apresentado maior crescimento em número, devido ao menor custo de investimento, tecnologia disponível atualmente, e disponibilidade de águas represadas no país. O cultivo de tilápias em tanques-rede requer a alimentação exclusiva de dietas nutricionalmente completas e balanceadas, as quais constituem o principal fator do custo de produção. Dessas dietas, a proteína é o nutriente mais importante a ser considerado, tanto para o peixe como para o custo da dieta. O nível de proteína da dieta depende de inúmeros fatores inerentes ao peixe, às condições ambientais de cultivo, e à própria dieta. Vários estudos têm buscado o melhor regime de alimentação em função dos níveis e qualidade protéicos, visando à redução dos custos com alimentação. Esses estudos são realizados com peixes sexualmente revertidos. Porém, a reversão sexual por meio da utilização de hormônio tem sido

discutida, por não terem determinado ainda as conseqüências desta técnica sobre o organismo do peixe.

Têm sido notados nas pisciculturas, problemas de acúmulo de gordura no fígado das tilápias, aliados a alta mortalidade próxima ao abate. É importante a determinação das causas deste problema que afetam a produtividade e a qualidade do pescado para que se garanta o abastecimento do mercado interno e externo com qualidade do produto. Pois o consumidor está cada vez mais exigente em qualidade do que consome e no conhecimento das condições em que o pescado foi cultivado. O procedimento neste trabalho acompanhou o das pisciculturas, e para tanto, formulou-se rações com ingredientes utilizados pelas indústrias de rações e com base na proteína bruta.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho e a estrutura hepática de tilápias do Nilo entre lotes sexualmente revertidos ou não, por meio da utilização do hormônio 17- α -metiltestosterona adicionado à alimentação na fase larval, cultivados em tanques-rede e alimentados com dois níveis protéicos: 28 ou 32% PB.

Material e Métodos

Instalações e condições experimentais

O experimento foi realizado em uma represa na Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, localizada em Jaboticabal, São Paulo (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W), com duração de 115 dias. A represa tem aproximadamente 1800m² de lâmina d'água e profundidade média de dois metros. Antes da realização do experimento, a represa foi esvaziada totalmente, realizada a calagem com cal virgem e deixada ao sol durante um mês. Depois foi abastecida novamente com água proveniente de outra represa.

Os peixes utilizados nesta investigação foram estocados em 12 tanques-rede de 4m³, instalados na represa. Os tanques-rede foram dispostos paralelamente em duas linhas de seis tanques, no sentido longitudinal da represa, e foi colocado um aerador entre eles, que permanecia ligado das 18h00min até as 6h00min do dia seguinte.

Durante o ensaio, variáveis físico-químicas da água foram monitoradas. O potencial hidrogeniônico (pHmetro digital-Corning) e a amônia total (espectrofotômetro) foram medidos semanalmente, às 7h00min da manhã. O oxigênio dissolvido na água (Oxímetro digital-YSI) e a temperatura da água foram medidos três vezes por semana, às 9h00min e às 15h00min. A temperatura da água foi monitorada também diariamente, utilizando-se termômetro de máxima e mínima instalado a um metro de profundidade nos tanques-rede.

Material biológico e manejo

Foram utilizadas 2400 tilápias do Nilo, da linhagem Tailandesa, provenientes da Piscicultura Aquabel, localizada em Rolândia, Paraná. Metade passou pelo processo de reversão sexual utilizando-se 60 mgMT.kg⁻¹ adicionada à dieta das pós-larvas por 38 dias na própria piscicultura, e a outra metade não. As tilápias foram mantidas no Centro de Aqüicultura, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos até a colocação nos tanques-rede, com peso inicial médio de 127 gramas. Durante a criação dos peixes, entre as fases de alevinagem e recria foi realizada uma repicagem de 15% dos peixes grandes e 15% dos peixes pequenos. Isso foi realizado nos dois grupos de peixes, não revertidos e revertidos. E o objetivo deste passo foi o de adequar a densidade dos peixes nas caixas de cultivo e homogeneizar os lotes para colocá-los nos tanques-rede.

Foram colocados inicialmente 200 peixes em cada tanque-rede, usando taxa de estocagem de 50 peixes/m³. Os grupos de tilápias revertidas ou não foram distribuídos nos 12 tanques-rede, ao acaso, por sorteio, assim como a distribuição dos tratamentos

experimentais (dietas) nos tanques-rede de cada grupo. Os peixes foram arraoados até a saciedade aparente, observando-se o consumo diário da dieta. O arraçoamento foi realizado cinco vezes ao dia, nos seguintes horários: 9h30min, 11h30min, 13h30min, 15h30min e 17h30min.

Delineamento experimental

O experimento foi realizado num DIC com quatro tratamentos em um esquema fatorial 2 x 2, correspondendo aos dois grupos de peixes (revertidos ou não) e às dietas com 28 ou 32% de proteína bruta, com três repetições cada. Os tratamentos foram:

- NR28 - alevinos não revertidos e alimentados com a dieta com 28,0% PB;
- NR32 - alevinos não revertidos e alimentados com a dieta com 32,0% PB;
- RV28 – alevinos revertidos e alimentados com a dieta com 28,0% PB;
- RV32 - alevinos revertidos e alimentados com a dieta com 32,0% PB.

Dietas experimentais

As análises dos ingredientes e das dietas foram realizadas no Centro de Aquicultura, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, segundo a metodologia descrita pela A.O.A.C. (2000). As dietas experimentais isoenergéticas (aproximadamente 4000 kcal de EB/kg) foram formuladas de forma a apresentarem 28 ou 32% de proteína bruta, e 50% da composição em proteína proporcionada por ingredientes de origem animal (farinha de peixe, farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas, em proporções iguais). A composição percentual e químico-bromatológica calculada e analisada das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas	
	28%PB	32%PB
Milho	46,63	38,57
Farelo de trigo	14,63	14,96
Farelo de soja	16,18	22,22
Óleo de soja	1,00	0,50
Farinha de peixe (70%PB)	4,81	5,49
Farinha de carne (44% PB)	4,81	5,49
Farinha de sangue (89% PB)	4,81	5,49
Farinha de penas de aves (89%PB)	4,81	5,49
L-Lys ⁽¹⁾	0,15	0,00
Fosfato Bicálcico	1,20	0,80
Suplemento Vitamínico e Mineral ⁽²⁾	1,00	1,00
Total	100,00	100,00
Composição bromatológica ⁽³⁾		
Matéria seca (%)	89,36	89,76
Proteína bruta (%)	28,00	32,00
Extrato etéreo (%)	4,37	3,78
Carboidratos totais (%)	50,22	46,66
Matéria mineral (%)	6,77	7,32
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	4072	4098
Composição bromatológica ⁽⁴⁾		
Matéria seca (%)	89,73	90,63
Proteína bruta (%)	26,79	31,02
Extrato etéreo (%)	2,31	2,23
Carboidratos totais (%)	54,72	51,27
Matéria mineral (%)	5,91	6,11
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	4002	4090

PB= proteína bruta

(1) L-Lys- níveis de garantia: mín 78% lisina base; máx. 1,5% umidade; mín 99% pureza

(2) Níveis de garantia por kg de produto: vit A 860.000 UI; vitamina D3 240.000 UI; vitamina E 10.500 UI; vitamina K3 1400 mg; vitamina B1 2100 mg; vitamina B2 2150 mg; vitamina B6 2100 mg;

vitamina B12 2200 mcg; Niacina 10.000mg; Pantotenato de cálcio 5600 mg; Acido fólico 580 mg;

Biotina 17mg; vitamina C 18000 mg; metionina 100.000 mg; colina 60.000 mg; cobre 1800 mg;

manganes 5000 mg; zinco 8000 mg; iodo 90 mg; cobalto 55 mg; selenio 30 mg; antioxidante 10000 mg.

(3) Composição calculada a partir da composição analisada dos ingredientes

(4) Composição analisada

As dietas experimentais foram processadas na Fábrica de Ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP, em Jaboticabal, por meio de mistura dos ingredientes em um misturador horizontal, e posterior extrusão em extrusora a vapor em sistema de uma rosca trabalhando a temperaturas de 90 a 130°C,

com capacidade de processamento de 250 kg por hora. O tamanho dos grânulos foi sendo adaptado ao tamanho dos peixes, a cada processamento.

Parâmetros avaliados

Foi realizada uma biometria aos 60 dias do início do ensaio, por amostragem de 12% dos peixes. Nesse período foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: peso (P60), comprimento total (C60), ganho de peso (GP60) e conversão alimentar aparente (consumo total de dieta de cada parcela/ganho em peso de cada parcela) (CA60).

Ao final do ensaio foi realizada a despesca nos tanques-rede e a biometria em todos os peixes, pesando-os e medindo o seu comprimento total. Foram avaliados: peso (PF), comprimento total (CF), ganho de peso (GP), conversão alimentar aparente (consumo total de dieta de cada parcela/ganho de peso de cada parcela) (CA), taxa de sobrevivência [$Sob = (n^\circ \text{ peixes final} / n^\circ \text{ peixes inicial}) \times 100$], e determinada a proporção de machos [$\% \text{ machos} = (n^\circ \text{ machos identificados} / n^\circ \text{ total final de peixes}) \times 100$].

Identificação do sexo dos peixes

Na despesca, durante a biometria final, foi realizado o exame macroscópico pela análise visual da papila urogenital de todos os peixes (Popma & Green, 1990), para identificação do sexo dos peixes e determinação da proporção de machos.

Coleta e análise histológica do fígado dos peixes

Para análise histológica, foram coletados fígados de quatro peixes de cada tratamento, aleatoriamente. Inicialmente, os peixes foram insensibilizados e mortos em gelo moído. Após a abertura da cavidade celomática, gotejando-se glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M), foi retirado o fígado. Os fígados coletados

foram picados e mantidos na solução de glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M) por 24 horas, para fixação.

Após a fixação, procedeu-se as oito lavagens, diárias, em tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M) para retirada da solução fixadora. Em seguida, o material foi preservado em álcool 80° para posterior realização da análise histológica.

A inclusão do material foi realizada em historesina (Historesin[®] - Leica). A microtomia foi realizada em micrótomo automático (Leica-RM2155, Germany) com a obtenção de cortes com três µm de espessura. Posteriormente, foi realizada a coloração em Hematoxilina – Eosina e Azul de Toluidina 0,5%/ Fucsina básica 0,5% (Behmer, 1976). Os cortes histológicos foram analisados e fotomicrografados com fotomicroscópio Leica em software gwin.

Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey), ao nível de 5% de significância, pelo programa Statistical Analysis System (SAS, 2001).

Resultados e Discussão

Condições ambientais de cultivo

Uma semana imediatamente antes da instalação dos tanques-rede e a colocação dos peixes, a água da represa apresentava os seguintes valores médios de: oxigênio dissolvido= $6,43 \pm 1,63 \text{ mg.L}^{-1}$; temperatura da água= $19,13 \pm 1,11^\circ\text{C}$ e pH= $6,99 \pm 0,38$.

A média dos parâmetros físico-químicos da água durante o experimento estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios de parâmetros físico químicos da água durante o experimento

Parâmetros	Média
Temperatura/ manhã (°C)	25,80 ± 0,89
Temperatura/ tarde (°C)	26,66 ± 1,23
Oxigênio dissolvido/ manhã (mg.L ⁻¹)	2,98 ± 0,49
Oxigênio dissolvido/ tarde (mg.L ⁻¹)	5,47 ± 1,41
pH	6,78 ± 0,27
Amônia (mg.L ⁻¹)	0,062 ± 0,004

As tilápias são particularmente tolerantes ao baixo oxigênio dissolvido, convivem com ampla acidez e alcalinidade na água, crescem e até mesmo se reproduzem em águas salobras e salgadas e toleram altas concentrações de amônia tóxica comparadas à maioria dos peixes cultivados (Kubitza, 2000).

El-Sayed (2006) considerou a faixa de temperatura 20 a 35°C para o desenvolvimento normal, reprodução e crescimento da tilápia. As temperaturas pela manhã e à tarde durante o experimento estiveram dentro destes limites.

A água nos tanques-rede apresentou baixa concentração média de oxigênio dissolvido pela manhã, porém acima do limite mínimo de 2,4 mg/L (Kubitza, 2000). A tilápia é um peixe que tolera baixas concentrações de oxigênio por algumas horas e/ou alguns dias consecutivos (Kubitza, 2000).

A faixa de pH considerada boa para tilápia é entre 6,0 e 8,5, e a concentração de amônia total adequada deve estar abaixo de 0,24 mg.L⁻¹ (Kubitza, 2000). O pH manteve-se dentro da faixa considerada boa para a tilápia. A concentração média de amônia total na água durante o ensaio foi aceitável.

Tran-Duy *et al.* (2008) encontraram menores taxas de consumo e de crescimento de tilápias do Nilo com peso em torno de 190g, em água com 3,00 mg/L de oxigênio dissolvido (O₂D), comparativamente à de 5,60 mg/L de O₂D. Os autores sugeriram uma mudança no ritmo de alimentação em baixos níveis de O₂D. No presente estudo, o baixo nível de O₂D pela manhã pode não ter afetado o consumo de dieta dos peixes, pois

foram realizadas várias alimentações por dia e o consumo de dieta pode ter sido compensado à tarde com níveis de O_2D em torno de 5,47 mg/L.

Resultados de desempenho

Ao serem colocados nos tanque-rede, as médias de peso e comprimento total dos peixes não revertidos foram $120,24 \pm 33,60$ g e $18,26 \pm 1,52$ cm, respectivamente, e dos peixes revertidos foram $134,14 \pm 44,83$ g e $18,91 \pm 1,77$ cm, respectivamente.

A análise estatística para as médias de peso (P60), comprimento total (C60), ganho de peso (GP60), conversão alimentar aparente (CA60), após 60 dias de alimentação são apresentadas na Tabela 3.

Nos primeiros 60 dias de cultivo houve interação entre os fatores reversão sexual (RV) e teor de proteína na dieta (PB) para todos os parâmetros analisados (Tabela 3), e o desdobramento da interação para as médias de peso, ganho de peso, conversão alimentar e comprimento total são apresentadas nas Tabelas de 4 a 7, respectivamente.

Tabela 3. Valores de F para parâmetros de desempenho de tilápias do Nilo revertidas ou não, cultivadas em tanques-rede por 60 dias e alimentadas com dietas com dois níveis de proteína

Estatísticas	Peso (g)	Ganho de Peso (g)	Conversão Alimentar (g)	Comprimento (cm)
Valores de F para RV	0,61 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,17 ^{ns}	1,54 ^{ns}
Valores de F para PB	30,83 ^{**}	43,78 ^{**}	44,75 ^{**}	26,05 ^{**}
Valores de F para interação RV x PB	9,70 [*]	11,13 ^{**}	10,47 [*]	15,27 ^{**}
CV (%)	5,76	7,61	7,51	7,84

RV= reversão sexual; PB= proteína bruta

Tabela 4. Médias de peso (g) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.

Alevinos	Níveis de proteína bruta	
	28%	32%
Não revertidos	286,09 ± 10,62 Bb ⁽¹⁾	383,89 ± 21,07 Aa
Revertidos	330,03 ± 29,49 Ba	357,55 ± 10,09 Ab

(1) Médias seguidas de mesma letra (minúsculas para comparações na vertical e maiúsculas para comparações na horizontal) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Tabela 5. Médias de ganho de peso (g) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.

Alevinos	Níveis de proteína bruta	
	28%	32%
Não revertidos	168,34 ± 4,33 Bb ⁽¹⁾	261,15 ± 15,14 Aa
Revertidos	194,35 ± 27,96 Ba	224,94 ± 3,73 Ab

(1) Médias seguidas de mesma letra (minúsculas para comparações na vertical e maiúsculas para comparações na horizontal) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Tabela 6. Médias de conversão alimentar de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.

Alevinos	Níveis de proteína bruta	
	28%	32%
Não revertidos	1,93 ± 0,07 Aa ⁽¹⁾	1,25 ± 0,08 Bb
Revertidos	1,68 ± 0,21 Ab	1,45 ± 0,01 Ba

(1) Médias seguidas de mesma letra (minúsculas para comparações na vertical e maiúsculas para comparações na horizontal) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Tabela 7. Médias de comprimento total (cm) de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas, cultivadas em tanques-rede e alimentadas com dietas práticas contendo dois níveis de proteína bruta, durante 60 dias.

Alevinos	Níveis de proteína bruta	
	28%	32%
Não revertidos	23,82 ± 1,84 Bb ⁽¹⁾	25,91 ± 1,99 Aa
Revertidos	25,01 ± 1,78 Ba	25,29 ± 2,20 Ab

(1) Médias seguidas de mesma letra (minúsculas para comparações na vertical e maiúsculas para comparações na horizontal) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Nos primeiros 60 dias de cultivo das tilápias, o nível de 32%PB na dieta possibilitou maiores ($P<0,05$) médias de peso (Tabela 4), ganho de peso (Tabela5), comprimento total (Tabela7) e, melhor conversão alimentar ($P<0,05$) (Tabela 6) nos dois grupos de peixes, revertidos ou não. No mesmo período, os peixes revertidos apresentaram melhor ($P<0,05$) crescimento e conversão alimentar que os não revertidos, quando arraçoados com 28%PB. Porém, o contrário aconteceu quando os dois grupos foram arraçoados com 32%PB ($P<0,05$).

A análise estatística e as médias de peso, comprimento, ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência das tilápias revertidas ou não após 115 dias de alimentação com dietas com 28 ou 32% de PB, são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho e sobrevivência de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas sexualmente, cultivadas em tanques-rede por 115 dias alimentadas com dietas com dois níveis de proteína bruta

Estatísticas	Peso (g)	Comprimento (cm)	Ganho de Peso (g)	Conv Alimentar (g)	Sobrevivência (%)
F para RV	2,21 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,07 ^{ns}	5,65 [*]	1,31 ^{ns}
F para PB	34,36 ^{**}	0,42 ^{ns}	44,65 ^{**}	70,21 ^{**}	0,13 ^{ns}
F para interação RV x PB	3,16 ^{ns}	0,39 ^{ns}	2,67 ^{ns}	2,17 ^{ns}	0,08 ^{ns}
CV (%)	3,18	3,46	3,48	2,84	3,98
Médias para tilápias:					
Não revertidas	593,91 ± 50,52 ⁽¹⁾	31,02 ± 1,22	473,67 ± 47,24	1,83 ± 0,17 a	90,58 ± 3,76
Revertidas	610,34 ± 27,87	30,90 ± 0,73	476,20 ± 28,10	1,76 ± 0,12 b	93,00 ± 2,79
Médias para dietas com:					
28% PB	569,77 ± 28,29 b	30,76 ± 1,09	443,06 ± 20,09 b	1,92 ± 0,07 a	91,42 ± 4,38
32% PB	634,49 ± 13,34 a	31,16 ± 0,86	506,82 ± 13,53 a	1,67 ± 0,06 b	92,17 ± 2,44

RV= reversão sexual; PB= proteína bruta

** significativo ($P < 0,01$); * significativo ($P < 0,05$); ns- não significativo

(1) Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Não houve interação entre os fatores reversão sexual e nível de proteína na dieta para os parâmetros analisados ($P>0,05$). Os peixes revertidos ou não apresentaram médias de ganho de peso semelhantes, porém, a conversão alimentar foi melhor ($P<0,05$) para o lote sexualmente revertido. A dieta contendo 32%PB possibilitou maiores ($P<0,05$) médias de peso e de ganho de peso, e melhor média de conversão alimentar ($P<0,05$). Não houve diferenças entre as taxas de sobrevivência dos dois grupos de tilápias, nos dois fatores estudados ($P>0,05$).

Os ganhos totais médios de peso dos peixes revertidos e não revertidos e alimentados com as dietas de 28 e 32% PB podem ser comparados aos resultados de Yi *et al* (1996), em condições semelhantes de experimento. Estes autores encontraram a média de 413 g/peixe, para tilápias do Nilo alimentadas com dieta comercial contendo 30% PB, em tanques-rede de 4 m³, na densidade de 50 peixes/m³, em um período de 90 dias. A conversão alimentar encontrada pelos autores foi de 1,46, melhor que todas as obtidas no presente experimento, em que as tilápias eram alimentadas até a saciedade aparente. As taxas de sobrevivência do presente ensaio foram bastante superiores àquela encontrada pelos autores (de 83,9%).

Ribeiro (2001) observou os seguintes parâmetros zootécnicos para tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede de baixo volume e alta densidade: peso médio individual em 140 dias de cultivo de 407 g com conversão alimentar média de 1,73 e sobrevivência média de 95%. Mesmo considerando-se que a densidade no presente experimento era baixa, foram obtidos melhores médias de peso em menor período de cultivo, com semelhantes médias de conversão alimentar e médias de sobrevivência.

Ao contrário do que foi encontrado no presente experimento, Dan & Little (2000) estudaram três linhagens diferentes de tilápia do Nilo, cultivadas em gaiolas de 1,2 m³, e

alimentadas com dieta contendo 30%PB e verificaram melhores ganhos de peso para as tilápias monosexo, em relação aos grupos mistos (machos e fêmeas).

Resultado de proporção de machos observado ao final do período experimental

A análise estatística e as médias de proporções de macho nos grupos das tilápias revertidas ou não e alimentadas com dietas com 28 ou 32% de PB, após 115 dias de cultivo são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Valores de F e médias de proporção de machos de tilápias do Nilo não revertidas e revertidas sexualmente, cultivadas em tanques-rede por 115 dias, alimentadas com dietas com dois níveis de proteína

Estatísticas	Proporção de Machos (%)
F para RV	45,27**
F para PB	6,48*
F para interação RV x PB	5,09 ^{ns}
CV (%)	3,84
Médias para tilápias:	
Não revertidas	84,33 ± 6,83 b ⁽¹⁾
Revertidas	97,92 ± 1,08 a
Médias para dietas com:	
28%PB	88,56 ± 10,35 b
32%PB	93,70 ± 5,96 a

RV= reversão sexual; PB= proteína bruta

** significativo (P<0,01); *significativo (P<0,05); ns- não significativo (P>0,05)

1) Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

Ocorreu influência da reversão sexual sobre a proporção de machos (P<0,01). Ao final do experimento o grupo de tilápias não revertidas tinha em média 84,33% de machos e o grupo de tilápias revertidas, 97,92% de machos (Tabela 9). A proporção de machos para o grupo de peixes que passaram pela reversão sexual por meio de adição de hormônio na dieta na fase larval indica efetividade do processo de reversão.

A proporção de machos encontrada no grupo de peixes que não receberam o hormônio na fase inicial de vida pode ser considerada relativamente alta, se comparada aos resultados obtidos por Mair *et al.* (1995) com 47,22 e 53,19% de machos em

experimento com duas linhagens de tilápia do Nilo conduzido com peixes não revertidos (grupos de machos e fêmeas) cultivados em sistemas de recirculação de água. Porém, Beardmore *et al.* (2001), citando alguns trabalhos com progênies de diferentes linhagens de tilápia do Nilo, relataram faixas amplas de proporção de machos, de 31 a 77% (*Oreochromis niloticus*, linhagem Auburn) ; de 35 a 55% (*Oreochromis niloticus* linhagem Swansea); e de 15,5 a 100% (*Oreochromis niloticus* linhagem AIT). Estes autores sugerem que a variação na proporção de machos é influenciada pela genética, mas fatores externos também podem modificar as proporções de machos em grupos de tilápias.

No presente experimento, deve-se considerar que durante a alevinagem e recria dos peixes no laboratório foi realizada uma repicagem, retirando-se 15% dos peixes grandes e 15% dos peixes pequenos. Isso foi realizado nos dois grupos de peixes, não revertidos e revertidos. E o objetivo deste passo foi o de adequar a densidade dos peixes nas caixas de cultivo e homogeneizar os lotes para colocá-los nos tanques-rede. Nas pisciculturas, mesmo trabalhando com peixes masculinizados, ocorre a classificação da tilápia por tamanho, antes da colocação nos tanques-rede.

Histologia de fígado

Nas coletas de fígado, foi possível visualizar macroscopicamente manchas esbranquiçadas e aspecto friável do órgão dos peixes revertidos (Figura 1).

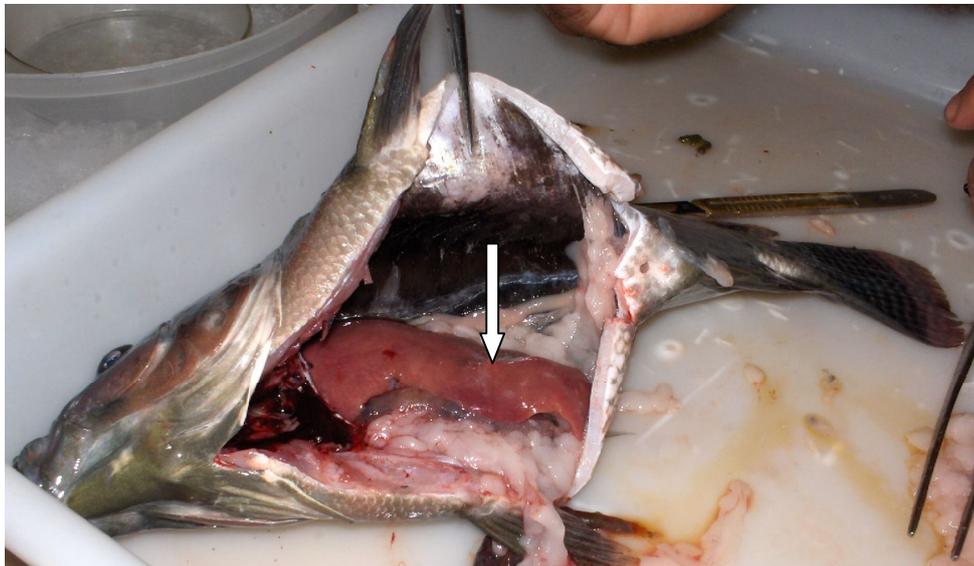


Figura1- Tilápia do Nilo revertida, cultivada em tanque-rede, alimentada com dieta contendo 32%PB, com a cavidade celomática aberta mostrando o fígado *in situ* (seta).

As amostras de fígados dos peixes mostraram-se semelhantes quanto à histologia. Na análise histológica, as amostras provenientes dos peixes não revertidos e alimentados com 28% PB exibiram hepatócitos arredondados, de tamanho normal, com núcleo central com alta basofilia e citoplasma com pequenas vesículas e alta acidofilia, porém em desarranjo na organização cordonal. Neste tecido foi também observada a presença de hepatopâncreas e grânulos de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos. A partir da veia central formavam-se pequenos capilares sinusóides que estavam em contato direto com os hepatócitos.

Os resultados conferem com a descrição histológica do fígado de teleósteos (Kendall & Hawkins, 1975; Bruslé & Anadon, 1996), inclusive da tilápia do Nilo (Vicentini et al., 2005), o que permite caracterizar a histologia do fígado desses peixes com padrão estrutural para a espécie.

As amostras provenientes dos peixes não revertidos e alimentados com dietas contendo 32% PB e dos peixes revertidos e alimentados com 28% PB, foi visualizada congestão sanguínea no interior dos hepatócitos que estavam mais deslocados quanto à organização cordonal (Figura 2A). Nas amostras provenientes dos peixes revertidos e alimentados com dietas contendo 32% PB, as alterações no tecido hepático foram mais acentuadas, podendo-se notar, além da desorganização nos cordões de hepatócitos e congestão sanguínea no interior dessas células, aumento do volume das vesículas no interior dos hepatócitos e aumento de volume das células (Figura 2B).

O aumento de volume dos hepatócitos com deslocamento do núcleo dos hepatócitos para a periferia da célula e a presença de vesículas no interior no citoplasma mostrou que as células estavam com a atividade metabólica alterada. Segundo Santos *et al.* (2004), vacuolizações citoplasmáticas que aumentam o volume dos hepatócitos indicam a existência de regiões com provável concentração de lipídeos e glicogênio ou a combinação de agentes tóxicos com lipídeos intracitoplasmáticos. O acúmulo de lipídeos e a diminuição de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos prejudicam suas atividades metabólicas. No presente estudo, as alterações dos hepatócitos encontradas são semelhantes às observadas por esses autores e foram mais acentuadas no grupo de peixes revertidos e alimentados com 32%PB na dieta.

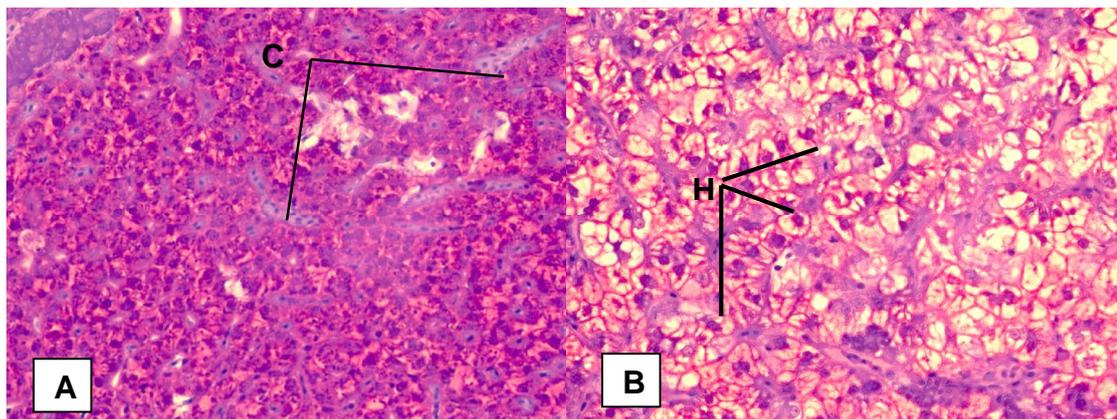


Figura 2. Fotomicrografias de fígados de tilápias (*O. niloticus*) revertidas e alimentadas com dietas com dois níveis de proteína bruta na dieta. **Em A)** Tratamento RV28 com congestão sangüínea (C) no interior dos capilares sinusóides. Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 200x. **Em B)** Tratamento RV32 com aumento do volume dos hepatócitos (H). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x.

Conclusões

Os resultados observados nas condições experimentais justificam as seguintes conclusões:

- 1) Lotes de tilápias que foram submetidas à reversão sexual não mostraram melhor crescimento a nível de proteína bruta mais alto na dieta.
- 2) A reversão sexual não influenciou o desempenho produtivo da tilápia do Nilo. Isto pode ser devido à alta proporção de machos no lote não revertido. Assim, a separação dos peixes por sexo pode ser alternativa à reversão sexual de tilápias que ocasiona prejuízos ao fígado dos peixes.
- 3) O nível de proteína bruta na dieta de 28% é suficiente para desempenho satisfatório da tilápia, e desejável à saúde dos peixes.

Referências

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Gaithersburg, MD, USA, AOAC Inc.
- Beardmore, J.A.; Mair, J.C.; Lewis, R.I. (2001) Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. *Aquaculture*, **197**, p.283-301.
- Behmer, A.O.; Tolosa, E.M.C.; Freitas-Neto, A.G. (1976) *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. 1.ed. São Paulo, Ed. Edusp/Edart. 239p.
- Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: *Fish Morphology*. Science Publishers. 300p.
- Dan, N.C. & Little, D.C. (1997) The culture performance of monosex and mixed-sex new-season and overwintered fry in three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in northern Vietnam. *Aquaculture*, **184**, p.221-231.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia culture*. 1.ed. Cambridge, CABI Publishing. 277p.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2005). *Estatística da Pesca – 2004 - Brasil*. Disponível em <[http:// 200. 198. 202. 145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf](http://200.198.202.145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf)> Acesso em 27/10/ 2008.
- Kendall, M.W. & Hawkins, W.E. (1975) Hepatic morphology and acid phosphatase localization in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, **32**, p. 1459-65.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. 1.ed. Jundiaí, SP, F. Kubitza. 289p.
- Mair, G.C.; Abucay, J.S.; Beardmore, J.A. & Skibinski, O.F. (1995) Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture*, **137**, p.313-322.
- Popma, T. J. & Green, B. W. (1990) *Manual de Production Acuicola. Reversion Sexual de Tilapia em Lagunas de Tierra*. Association Americana de Soya. 34p.
- Ribeiro, R.P. Espécies exóticas. (2001) In: Moreira, H.L.M.; Vargas, L.; Ribeiro, R.P.; Zimmermann, S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. ULBRA, Canoas, RS. 199p.
- Santos, A.A.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; Felizardo, N.N. & Rodrigues, E.L. (2004) Análise histopatológica de fígado de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, **30**, p.141-145.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. (2001) *Statistical Analysis Software User's guide statistics*, 5. ed., Cary, NC, SAS Institute Inc., 956.
- Tran-Duy, A.; Schrama, J.W.; Van Dam, A.A. & Verret, J.A.J. (2008) Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, **275**, p.152-162.
- Vicentini, C.A.; Franceschini-Vicentini, I.B.; Bombonato, M.T.S.; Bertolucci, B.; Lima, S.G. & Santos, A.S. (2005) Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, **23**, p.211-216.
- Yi, Y.; Lin, C.K.; Diana, J.S. (1996) Influence of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) stocking density in cages on their growth and yield in cages and in ponds containing the cages. *Aquaculture*, **146**, p.205-215.

CAPÍTULO 5

Desempenho e histologia hepática de tilápias do Nilo revertidas ou não, alimentadas com dietas práticas com diferentes fontes e teores protéicos

Resumo- As causas de acúmulo de gordura no fígado de tilápias cultivadas em regime intensivo têm sido estudadas. Um experimento foi conduzido com tilápias do Nilo da linhagem tailandesa na Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Jaboticabal, São Paulo. Os juvenis utilizados foram submetidos ou não à reversão sexual por meio da adição de 60 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de dieta comercial. Foram cultivados em 32 caixas de fibra de 420L até atingirem o peso inicial médio de $30,82 \pm 4,76$ e $31,07 \pm 3,93$ g, revertidos ou não, respectivamente. O experimento teve duração de 105 dias, os quais foram divididos em dois períodos, de 45 e 60 dias de duração. Os dois grupos de peixes, revertidos ou não, receberam quatro tipos de dietas práticas que variavam no teor de proteína bruta: 28 ou 32% com 50% de origem animal de dois padrões: mistura, em partes iguais, de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas de aves, ou somente farinha de peixe. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia, até a saciedade aparente. Ao final do experimento, foi analisada a proporção de machos. Foram coletadas amostras de fígado dos peixes para análise histológica. Os peixes revertidos apresentaram ao final do experimento maiores médias de peso, comprimento e ganho de peso. Não ocorreu mortalidade nos dois grupos de peixes. A mistura dos ingredientes farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas de aves se mostrou mais eficiente no desempenho dos peixes do que a utilização de farinha de peixe como único ingrediente protéico de origem animal. As médias de proporção de machos para os peixes revertidos ou não foram: 91 e 58%, respectivamente. Alterações histológicas hepáticas como desarranjo na organização cordonal, aumento de volume e de vesículas intracitoplasmáticas nos hepatócitos foram encontradas em todas as amostras analisadas, porém essas alterações foram exacerbadas nos peixes revertidos e alimentados com a mistura protéica.

Palavras chave: tilápia, reversão, 17- α -metiltestosterona, juvenis, proteína, fígado

Performance and liver histology of Nile tilapia reversed or not reversed and fed practical diets with different types and levels of protein

Abstract- The causes for fat liver in Nile tilapia are at the moment well studied. An experiment was carried out with Nile tilapia at São Paulo State University, Aquaculture Center, in the Laboratory of Aquatic Organisms Nutrition, Jaboticabal, SP (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W). The juveniles were, half of them, submitted by sex reversal with 60 mg of the hormone 17- α -methyltestosterone per kilogram of an commercial diet, and cultivated until reached the average weight of 30.82 ± 4.76 and 31.07 ± 3.93 g for the reversed fishes or not reversed, respectively. The experimental period lasted 105 days. The weight, total length and weight gain were measured at 45 days from the beginning and weight, total length, weight gain and survival at the final of the experiment. The two groups of fishes, reversed or not reversed were fed with four types of practical diets which varied from the crude protein level: 28 or 32% and, from the type of animal protein ingredients. One was formed, in equal parts, by meat meal, blood meal and poultry feathers hydrolyzed meal. The other was formed only by fish meal. The fishes were fed four times per day, until the apparent satiation. At the end of the experiment, the male's proportion was analyzed for the two groups of fishes. Samples of fish liver of the fishes were collected for histology. The reversed fishes showed higher average weight, length and weight gain that the no reversed ones, in the end of the experiment. There was not fish mortality during the experiment. The type of protein ingredients formed, in equal parts, by meat meal, blood meal and poultry feathers hydrolyzed meal was more efficient for the performance fishes that the one that utilized only fish meal as animal protein ingredient. When the diets were formulated only with the fish meal as animal protein, there was no difference within the crude protein level of the diets in the performance fishes. The average male proportion was 91 and 58% for the reversed fishes and for not reversed ones, respectively. At the histological analysis, alterations in the hepatic tissue were found in all samples analyzed, but they were more evident for samples from the reversed fishes and for the ones fed with diet formed by the three sources protein.

Key Words: tilapia, sex reversal, juveniles, protein, liver

Introdução

A Aqüicultura é o setor de produção animal que mais tem crescido no Brasil, e a tilapicultura é o cultivo de peixes de maior produção e expansão no nosso país atualmente, representando 38,4% da produção brasileira total de peixes cultivados (IBAMA, 2005). As perspectivas são de que o Brasil se torne o maior produtor de tilápia do mundo. A espécie mais cultivada é a tilápia do Nilo. Esse peixe, além de apresentar várias vantagens em termos de facilidade no cultivo e alta produtividade, tem ótima aceitação pelo consumidor devido às suas características organolépticas. Semelhante ao que acontece em todos os setores de produção animal, um dos maiores desafios é a alimentação, que deve ser balanceada qualitativa e quantitativamente da forma menos onerosa possível. Os nutricionistas têm buscado intensamente informações visando redução de custos com alimentação e dos teores de proteína nas dietas, sem perda do desempenho dos peixes. Muitas são as opções de fontes protéicas de boa qualidade nutricional para a tilápia.

A maior parte dos trabalhos em nutrição de tilápias é desenvolvida com peixes revertidos sexualmente, geralmente utilizando-se o hormônio 17- α -metiltestosterona. A técnica é largamente difundida nas pisciculturas, ainda que não tenham sido determinadas exatamente as conseqüências sobre o organismo do peixe, principalmente nas fases de recria e engorda.

Os produtores e consumidores vêm-se preocupando com o risco que a utilização hormonal na tilapicultura pode trazer à saúde humana, à saúde do peixe e ao ambiente aquático. Aliada a essa preocupação, está o fato de se encontrar, com freqüência no abate das tilápias, acúmulo de gordura no fígado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e a histologia hepática de juvenis de tilápias do Nilo revertidos ou não por meio da adição do hormônio 17- α -

metiltestosterona na dieta na fase de reversão, e alimentados com dietas práticas elaboradas com diferentes fontes protéicas para conterem 28 ou 32% de proteína bruta.

Material e Métodos

Instalações e condições experimentais

O ensaio foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aqüicultura (CAUNESP), no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), localizado em Jaboticabal, São Paulo (Lat. 21°15'S, Long. 48°18'W), com duração de 105 dias.

Os peixes utilizados neste experimento foram distribuídos em 32 caixas de fibra de vidro de 420 L. As caixas foram abastecidas com água proveniente de mina com taxa de renovação de aproximadamente 20 vezes ao dia e dotadas de aeração forçada proveniente de compressor radial, por meio de assopradores e mangueiras plásticas flexíveis com pedra porosa. A densidade de estocagem foi de 50 peixes/ m³, durante os primeiros 45 dias do ensaio e, de 30 peixes/m³ no período restante.

Durante o experimento, a temperatura da água foi aferida duas vezes ao dia, às 9h30min e às 15h30min, aleatoriamente, em duas caixas por tratamento, usando termômetro de bulbo de mercúrio. As variáveis físico-químicas da água foram analisadas semanalmente, às 8h00min e às 16h00min, em amostras de duas caixas por tratamento. Foi avaliado o potencial hidrogeniônico (pH) (potenciômetro digital-Corning OS-30), o oxigênio dissolvido na água (mg.L⁻¹) e a temperatura (oxímetro digital-YSI- *Yellow Spring Instruments* 54A) e a amônia total (mg.L⁻¹) (espectrofotômetro). O fotoperíodo no laboratório durante todo o experimento foi de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Material biológico e manejo

As tilápias utilizadas neste experimento foram provenientes da Fazenda Belmonte, pertencente à Piscicultura Aquabel, localizada em Rolândia, Paraná. Todos os peixes descendiam de um mesmo lote de 500 fêmeas e 150 machos de tilápia do Nilo, linhagem tailandesa. Metade dos alevinos foram revertidos na própria piscicultura, seguindo o manejo de adição de 60 mg.kg^{-1} de $17\text{-}\alpha\text{-metiltestosterona}$ na dieta comercial, fornecida oito vezes ao dia, por 38 dias. Os alevinos chegaram ao LANOA no dia seguinte ao término da fase de reversão e foram cultivados no laboratório até atingirem o peso e comprimentos médios de $30,82 \pm 4,76 \text{ g}$ e $12,28 \pm 0,85 \text{ cm}$ para os peixes revertidos e, $31,07 \pm 3,93 \text{ g}$ e $12,21 \pm 0,50 \text{ cm}$ para os peixes não revertidos.

Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (7h30min, 10h30min, 13h30min e 16h30min) observando-se o consumo da dieta até alcançar-se a saciedade aparente. Para o arraçoamento, a entrada de água era fechada por meia hora. As caixas foram limpas em dias alternados para retirada de sobras de ração e fezes do fundo das caixas, por meio de sifonagem manual com mangueira de borracha, sempre sete horas da manhã. Nos dias da aferição dos demais parâmetros físico-químicos da água, a medida era realizada antes das caixas serem sifonadas.

As biometrias foram realizadas nos peixes aos 45 e 105 dias após o início do arraçoamento com as dietas experimentais. Na realização das biometrias, os peixes eram anestesiados em solução de $0,1 \text{ g/L}$ de benzocaína e eram obtidos o peso (g) (balança digital; GEHAKA-B6-1000) e o comprimento (mm) (paquímetro digital de 0 a 150 mm; UUSTOOLS - Professional - MT 00855).

Dietas e delineamento experimentais

As dietas experimentais (isoenergéticas, aproximadamente 4200 kcal EB/kg) foram formuladas de forma a apresentarem aproximadamente 28 e 32% de proteína bruta (PB), e 50% da composição em proteína proporcionada por ingredientes de origem animal, em que cada um dos níveis de proteína possuía dois padrões de fontes protéicas utilizadas: um sendo uma mistura de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas em proporções iguais e outro, somente farinha de peixe.

O experimento foi em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com oito tratamentos em um esquema fatorial 2 X 4, correspondentes aos dois lotes de peixes (revertidos ou não), e às dietas com os teores (28 ou 32%) e as fontes de proteína (mistura em proporções iguais de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas ou farinha de peixe), com quatro repetições cada. Os tratamentos foram:

- NR28CSP - peixes não revertidos e alimentados com a dieta contendo 28% PB e padrão protéico composto de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas;
- NR28PX - peixes não revertidos e alimentados com a dieta contendo 28% PB e padrão protéico composto somente de farinha de peixe;
- NR32CSP - peixes não revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB e padrão protéico composto por farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas;
- NR32PX - peixes não revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB e padrão protéico composto somente de farinha de peixe;
- RV28CSP - peixes revertidos e alimentados com a dieta contendo 28% PB e padrão protéico composto por farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas;

- RV28PX - peixes revertidos e alimentados com a dieta contendo 28% PB e padrão protéico composto somente de farinha de peixe;
- RV32CSP - peixes revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB e padrão protéico composto de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas;
- RV32PX - peixes revertidos e alimentados com a dieta contendo 32% PB e padrão protéico composto somente de farinha de peixe.

As análises dos ingredientes e das rações foram realizadas no LANOA do CAUNESP, segundo a metodologia descrita pela A.O.A.C. (2000). A composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais calculada e analisada são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas			
	28CSP	28PX	32CSP	32PX
Milho	47,70	47,90	38,70	39,00
Farelo de trigo	14,00	14,01	14,00	14,31
Farelo de soja	15,86	16,46	22,52	22,36
Óleo de soja	0,65	0,34	0,97	0,50
Farinha de peixe (70%PB)	0,00	19,98	0,00	22,83
Farinha de carne (44% PB)	6,33	0,00	7,23	0,00
Farinha de sangue (89% PB)	6,33	0,00	7,23	0,00
Farinha de penas de aves (89%PB)	6,33	0,00	7,23	0,00
L-Lys ⁽¹⁾	0,30	0,00	0,00	0,00
Fosfato bicálcico	1,50	0,31	1,12	0,00
Suplemento Vitamínico e Mineral ⁽²⁾	1,00	1,00	1,00	1,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição bromatológica ⁽³⁾				
Matéria seca (%)	89,67	89,41	89,83	89,58
Proteína bruta (%)	28,00	28,00	32,00	32,00
Extrato etéreo (%)	3,63	5,03	3,77	5,24
Carboidratos totais (%)	50,47	50,85	46,21	46,61
Matéria mineral (%)	7,57	5,53	7,85	5,73
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	4013	4163	4076	4233
Composição bromatológica ⁽⁴⁾				
Matéria seca (%)	90,48	90,54	90,57	89,65
Proteína bruta (%)	27,87	27,72	31,53	30,49
Extrato etéreo (%)	6,23	6,25	6,22	5,99
Carboidratos totais (%)	50,53	50,92	46,68	47,51
Matéria mineral (%)	5,85	5,65	6,40	5,66
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	4257	4267	4304	4258

PB= proteína bruta; 28= 28%PB; 32= 32%PB; CSP= farinhas de carne, sangue e penas; P= farinha de peixe

(1) L-Lys- níveis de garantia: mín 78% lisina base; máx. 1,5% umidade; mín 99% pureza

(2) Níveis de garantia por kg de produto: vit A 860.000 UI; vitamina D3 240.000 UI; vitamina E 10.500 UI; vitamina K3 1400 mg; vitamina B1 2100 mg; vitamina B2 2150 mg; vitamina B6 2100 mg; vitamina B12 2200 mcg; Niacina 10.000 mg; Pantotenato de cálcio 5600 mg; Acido fólico 580 mg; Biotina 17 mg; vitamina C 18000 mg; Metionina 100.000 mg; Colina 60.000 mg; cobre 1800 mg; canganes 5000 mg; zinco 8000 mg; iodo 90 mg; cobalto 55 mg; selenio 30 mg; antioxidante 10000 mg.

(3) Composição calculada a partir da composição analisada dos ingredientes

(4) Composição analisada

As dietas experimentais foram preparadas na fábrica de ração do CAUNESP misturando-se os ingredientes em um misturador horizontal, para posteriormente ser realizada a granulação em peletizadora. Para o arrazoamento, os tratamentos foram sorteados ao acaso nos grupos de peixes (revertidos ou não).

Parâmetros avaliados

Nos primeiros 45 dias do ensaio foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: peso (P45), comprimento (C45) e ganho de peso (GP45) nesse período. Após a pesagem, foram deixados 12 peixes em cada caixa, retirando-se os quatro maiores peixes e os quatro menores peixes. Após 105 dias do início do ensaio foi realizada a biometria final e foram avaliados: peso (PF), comprimento (CF) e ganho de peso (GP).

Identificação do sexo dos peixes

Durante a biometria final, foi realizado o exame macroscópico pela análise visual da papila urogenital de todos os peixes (Popma & Green, 1990), para identificação do sexo dos peixes e determinação da proporção de machos.

A proporção de machos foi avaliada em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois tratamentos, correspondentes aos dois lotes de peixes (revertidos ou não) e 16 repetições.

Coleta e análise histológica do fígado dos peixes

Para a análise histológica, foram coletados fígados de quatro peixes de cada tratamento ao final do experimento, aleatoriamente. Os peixes foram insensibilizados e mortos em gelo moído, e, após a abertura da cavidade celomática, gotejando-se glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M), foi retirado o fígado. Os fígados coletados foram picados e colocados em solução de glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M), por 24 horas. Após a fixação, procedeu-se às oito lavagens, diárias, em tampão fosfato (pH 7,2; 0,1M) para retirada da solução fixadora. A seguir, o material foi mantido em álcool 80° para posterior realização da análise histológica.

A inclusão do material foi realizada em historesina (Historesin[®] - Leica). A microtomia foi realizada em micrótomo automático (Leica-RM2155, Germany) com a obtenção de cortes com três µm de espessura. A seguir, foi realizada a coloração em Hematoxilina – Eosina e Azul de Toluidina 0,5%/ Fucsina básica 0,5% (Behmer, 1976). Os cortes histológicos foram analisados e fotomicrografados com fotomicroscópio Leica em software gwin.

Análise Estatística

Os dados resultantes do ensaio foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade. Nas análises em que houve diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2001).

Resultados e Discussão

Condições ambientais de cultivo

A temperatura e os demais parâmetros físico-químicos médios da água durante o experimento são mostrados Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água durante o ensaio

Parâmetros	Valores médios
Temperatura/ manhã (°C)	24,98 ± 0,80
Temperatura/ tarde (°C)	25,64 ± 1,21
Oxigênio dissolvido/ manhã (mg/L)	5,28 ± 0,74
Oxigênio dissolvido/ tarde (mg/L)	3,94 ± 0,86
pH	6,72 ± 0,21
Amônia (mg/L)	0,524 ± 0,153

El-Sayed (2006) considerou a faixa de temperatura 20 a 35°C para o desenvolvimento normal, reprodução e crescimento da tilápia. As temperaturas pela manhã e à tarde durante o experimento estiveram dentro destes limites.

O teor de oxigênio dissolvido na água manteve-se acima do limite mínimo considerado por Kubitzka (2000), de 2,4 mg/L. Segundo este autor, a tilápia é um peixe que tolera baixas concentrações de oxigênio por algumas horas e/ou alguns dias consecutivos. Também, a faixa de pH considerada boa para tilápia é entre 6,0 e 8,5; e a concentração de amônia total adequada deve estar abaixo de 0,24 mg.L⁻¹. Segundo Watanabe *et al.* (2002) a tilápia tolera condições ambientais adversas, como altos níveis de amônia (2,4 a 3,4 mg/L de amônia não ionizada).

Desempenho

Os resultados da análise estatística dos parâmetros analisados durante o ensaio são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de F e médias dos parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia do Nilo não revertidos e revertidos cultivados em laboratório durante 105 dias e alimentados com diferentes níveis e padrões protéicos na dieta.

Estatísticas	45 dias de alimentação			105 dias de alimentação		
	Peso (g)	Ganho de peso (g)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Ganho de peso (g)	Comprimento (cm)
F para RV	0,67 ^{ns}	1,74 ^{ns}	9,12 ^{**}	22,02 ^{**}	23,27 ^{**}	33,26 ^{**}
F para dietas	10,71 ^{**}	15,57 ^{**}	10,94 ^{**}	5,04 ^{**}	4,95 ^{**}	3,42 [*]
F para interação RV x PB	0,49 ^{ns}	1,48 ^{ns}	0,73 ^{ns}	1,56 ^{ns}	1,81 ^{ns}	1,74 ^{ns}
CV (%)	3,95	5,42	1,31	4,99	5,90	1,80
Médias para tilápias:						
Não revertidas	74,38 ± 3,63 ⁽¹⁾	43,31 ± 2,79	15,85 ± 0,26 b	180,48 ± 11,78 b	149,41 ± 11,94 b	21,12 ± 0,45 b
Revertidas	75,23 ± 4,50	44,42 ± 4,53	16,07 ± 0,32 a	196,07 ± 10,91 a	165,25 ± 10,59 a	21,91 ± 0,44 a
Médias para dietas com:						
28CSP	71,75 ± 2,42 c	40,73 ± 1,58 b	15,77 ± 0,18 b	195,94 ± 8,82 a	164,93 ± 8,23 a	21,69 ± 0,25 ab
28PX	72,36 ± 2,23 bc	41,70 ± 1,71 b	15,77 ± 0,21 b	178,63 ± 10,62 b	147,97 ± 10,47 b	21,20 ± 0,46 b
32CSP	79,06 ± 3,99 a	48,02 ± 3,75 a	16,28 ± 0,32 a	191,83 ± 16,47 a	160,79 ± 16,79 a	21,75 ± 0,78 a
32PX	76,05 ± 2,41 ab	44,00 ± 2,21 a	16,01 ± 0,20 ab	186,68 ± 13,33 ab	155,63 ± 13,80 ab	21,42 ± 0,67 ab

RV= reversão sexual; PB= proteína bruta

28= 28%PB; 32= 32%PB; CSP= f. carne, f. sangue, f. penas; PX= f. peixe

** significativo ($P < 0,01$); * significativo ($P < 0,05$); ns- não significativo

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Não houve interação entre os fatores reversão sexual e tipo de dieta ($P>0,05$) para todos os parâmetros analisados. Os peixes revertidos apresentaram maiores médias para o comprimento aos 45 dias e peso, comprimento e ganho de peso ao final do experimento ($P<0,05$).

As dietas com 32% PB proporcionaram melhor média de ganho de peso aos 45 dias do ensaio ($P<0,05$), independente do padrão protéico utilizado. Os melhores pesos e ganhos de peso ao final do ensaio ($P<0,05$) foram proporcionados pelas dietas constituídas por farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas como ingredientes protéicos de origem animal (28 e 32% PB), não ocorrendo diferença com a dieta composta por farinha de peixe contendo 32% PB. E, entre esta última e a dieta com 28% de proteína bruta constituída por farinha de peixe como único ingrediente protéico de origem animal.

Os resultados mais satisfatórios de desempenho para os lotes alimentados com as dietas constituídas pela mistura protéica de farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas deveu-se provavelmente à maior variabilidade no perfil de aminoácidos dos ingredientes.

Segundo Patterson & Salter (1985) e Duarte *et al.* (2002) o hormônio 17- α -metiltestosterona (MT), esteróide sintético, é considerado substância anabolizante biologicamente exógena, a qual aumenta a síntese protéica e é substância química residual. Segundo Rinchar *et al.* (1999) o efeito anabolizante da metiltestosterona depende do estágio de desenvolvimento, tempo de administração do hormônio e fatores nutricionais. Como neste experimento, os juvenis tinham maior idade e haviam recebido MT na fase inicial de vida, os maiores peso e comprimento dos peixes revertidos não podem ser explicados pela ação anabolizante da MT.

Resultados de proporção de machos

As proporções de macho nos grupos das tilápias revertidas ou não revertidas, após 105 dias de cultivo, assim como a análise estatística desse parâmetro são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de F e médias de proporção de machos de juvenis de tilápia do Nilo revertidas e não revertidas, cultivadas em laboratório

Estatísticas	Proporção de Machos (%)
F para reversão sexual	44,85**
CV (%)	18,58
Médias para tilápias:	
Não revertidas	58,24 ± 17,52 b ⁽¹⁾
Revertidas	91,10 ± 8,85 a

** significativo ($P < 0,01$)

(1) Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

O lote de juvenis que recebeu tratamento hormonal para a reversão de sexo apresentou maior ($P < 0,01$) proporção de machos que o lote não tratado com MT, demonstrando a efetividade da reversão na fase larval. Essa maior proporção de machos pode ter refletido sobre o crescimento dos peixes, pois nesse grupo o crescimento foi maior. O cultivo somente de machos é considerado por alguns autores imprescindível para se obter altas taxas de crescimento e homogeneidade dos lotes (Meurer *et al.*, 2004). Ainda, piscicultores relataram maior desempenho de peixes machos em relação às fêmeas, o que poderia explicar os resultados encontrados. Os resultados para proporção de machos dos peixes não revertidos concordam com os de Mair *et al.* (1995) que encontraram 47,22 e 53,19% de machos em experimentos conduzidos com duas linhagens diferentes de grupos mistos (machos e fêmeas) de tilápias do Nilo em sistemas de recirculação de água.

Histologia de fígado

As amostras de fígado foram semelhantes quanto à análise histológica. As amostras dos tratamentos NR28CSP e NR32CSP apresentaram desarranjo da organização cordonal dos hepatócitos e presença de vesículas no interior dos mesmos (Figura 1A). As amostras dos peixes dos tratamentos NR28P e NR32P não apresentaram desarranjo da organização cordonal dos hepatócitos, mas a presença de vesículas em algumas regiões. Os hepatócitos apresentaram forma hexagonal com núcleo central levemente deslocado para a periferia da célula e citoplasma claro (Figura 1B). Este resultado mostra que a mistura protéica dos ingredientes farinha de carne, farinha de sangue, farinha de penas de aves hidrolisada gerou maiores problemas hepáticos aos peixes não revertidos.

As amostras de fígado dos peixes do tratamento RV28CSP apresentaram histologicamente os hepatócitos organizados em um arranjo cordonal. Os hepatócitos apresentaram forma hexagonal com núcleo central levemente deslocado para a periferia da célula e citoplasma claro (Figura 1C). As amostras de fígado dos animais do tratamento RV32CSP apresentaram histologicamente os hepatócitos organizados em um arranjo cordonal, porém com desarranjo desta organização em algumas regiões. Os hepatócitos apresentaram forma hexagonal com núcleo central levemente deslocado para a periferia da célula e citoplasma claro. Em algumas regiões também ocorreu congestão sangüínea no interior dos capilares sinusóides. Esta diferença na análise histológica mostra alterações hepáticas mais severas no maior nível de PB, devido à necessidade do fígado em metabolizar proteína em excesso .

As amostras de fígado dos peixes dos tratamentos RV28P e RV32P apresentaram histologicamente os hepatócitos organizados em um arranjo cordonal, porém em algumas regiões ocorreu desorganização desta disposição (Figura 1D). Os hepatócitos

apresentaram forma hexagonal com núcleo central levemente deslocado para a periferia da célula e citoplasma claro e em algumas regiões ocorreu aumento do volume destas células com a presença de vesículas no interior dos hepatócitos (Figura 1E).

As alterações histológicas encontradas demonstram alterações no metabolismo do fígado dos peixes. Congestão sanguínea dos capilares sinusóides acontece pela necessidade do tecido hepático metabolizar e excretar substâncias tóxicas. O aumento no calibre dos capilares sinusóides causam o desarranjo em forma de cordão dos hepatócitos. As vesículas intracitoplasmáticas podem ser de gordura, metabólito da MT ou de produtos do metabolismo dos nutrientes em excesso ou desbalanceados nutricionalmente nas dietas. As alterações no metabolismo dos hepatócitos foram mais severas nos peixes revertidos e/ou alimentados com maior nível de PB na dieta e/ou fontes protéicas de baixo valor biológico para a tilápia.

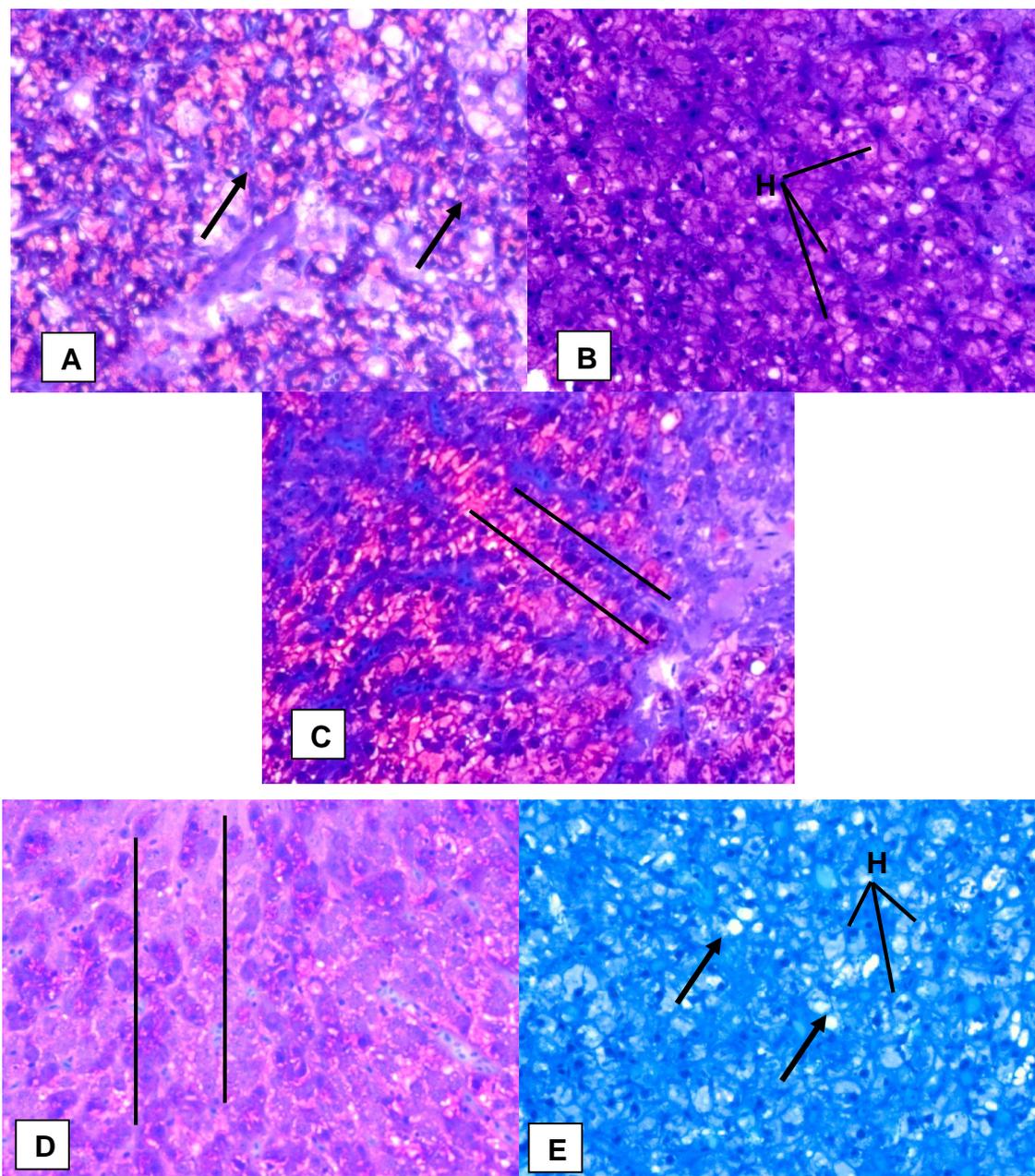


Figura 1. Fotomicrografia de fígado de tilápia (*O. niloticus*) revertida ou não revertida após 105 dias de alimentação com dietas contendo diferentes níveis e fontes de proteína bruta. **Em A)** Tratamento NR28CSP com presença de vesículas no interior dos hepatócitos (seta). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%. 400x. **Em B)** Tratamento NR32P organização hepatócitos (H). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x. **Em C)** Tratamento RV28CSP demonstrando a organização cordonal dos hepatócitos (traço). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x. **Em D)** Tratamento com RV28P demonstrando a desorganização cordonal dos hepatócitos (traço). Azul de Toluidina 1%/Fucsina básica 0,5%, 400x. **Em E)** Tratamento com RV 32P com aumento volume dos hepatócitos (H) e presença de vesículas (seta). Azul de Toluidina, 200x.

Conclusões

1) A mistura dos ingredientes farinha de carne, farinha de sangue e farinha de penas de aves para compor a parte protéica de origem animal na dieta, mostrou-se mais eficiente no desempenho dos peixes que a utilização de farinha de peixe como único ingrediente protéico de origem animal. Porém, gerou maiores problemas hepáticos aos peixes não revertidos, pela necessidade do fígado metabolizar ingredientes protéicos de baixo valor biológico para o peixe.

2) As alterações histológicas encontradas foram conseqüências dos peixes terem passado pela reversão sexual com adição de hormônio na dieta na fase larval, fato agravado pelo maior teor de proteína na dieta. As alterações histológicas demonstram que ocorreu excesso de proteína na dieta com 32% PB.

3) O ideal seria abolir a técnica de reversão sexual através da utilização de MT adicionada à dieta.

4) O nível de 28% PB em uma dieta balanceada qualitativamente deve ser adotado.

Referências

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Gaithersburg, MD, USA, AOAC Inc.
- Behmer, A.O.; Tolosa, E.M.C.; Freitas-Neto, A.G. (1976) *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. 1.ed. São Paulo, Ed. Edusp/Edart. 239p.
- Duarte, K. M. R.; Silva, F. M. S. M.; Meirelles, C. F. (2002) Resíduos de anabolizantes na produção animal: importância e métodos de detecção. *Ciência Rural*, **32**, 731-737.
- El-Sayed, A.-F.M. (2006) *Tilapia culture*. 1.ed. Cambridge, CABI Publishing. 277p
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2005). *Estatística da Pesca – 2004 - Brasil*. Disponível em <http://200.198.202.145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf> Acesso em 27/10/2008.
- Kubitza, F. (2000) *Tilápia: Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. 1.ed. Jundiaí, SP, F. Kubitza. 289p.
- Mair, G.C.; Abucay, J.S.; Beardmore, J.A. & Skibinski, O.F. (1995) Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture*, **137**, p.313-322.
- Meurer, F., Hayashi, C., Costa, M.M., Freccia, A. & Mauerwerk, M.T. (2004). Uso da *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. In: Anais da 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Campo Grande, MS, Brasil.
- Patterson, R. L. & Salter, L. J. (1985) Anabolic agents and meat quality: a review. *Meat Science*, Savoy, **14**, p. 191-220.
- Popma, T. J. & Green, B. W. (1990) Manual de Production Acuicola. Reversion Sexual de Tilapia em Lagunas de Tierra. Association Americana de Soya. 34p.
- Rinchar, J.; Dabrowski, K.; Garcia-Abiado, M. A. & Ottobre, J. (1999) Uptake and depletion of plasma 17- α -methyltestosterone during induction of masculinization in muskellunge (*Esox masquinongy*). In: _____. *Effect on plasma steroids and sex reversal*, **64**, p. 512-525. (Steroids)
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. (2001) *Statistical Analysis Software User's guide statistics*, 5. ed., Cary, NC, SAS Institute Inc., 956.
- Watanabe, W. O.; Losordo, T. M.; Fitzsimmons, K. (2002) Tilapia production system in the Americas: technological advances, trends, and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n. 3-4, p. 465-498. 2002

Considerações finais

1. A reversão sexual da tilápia através da utilização de 17- α -metiltestosterona adicionada à dieta visando o cultivo monosexo pode não ser segura quanto à saúde do peixe e nem desejável pelo consumidor.
2. Nesse estudo conseguiu-se reproduzir o problema de deformidades no fígado da tilápia, com o aspecto gorduroso e friável. Porém, não ocorreram taxas de mortalidade altas.
3. A reversão sexual por meio da adição do hormônio 17- α -metiltestosterona na dieta na fase larval causa danos ao fígado dos peixes. Esses danos são mais severos quando se utiliza a dose que hoje é a mais preconizada nas pisciculturas, de 60 mg.kg⁻¹ da dieta. Sendo que 30 mgMT.kg⁻¹ é suficiente para se obter efetividade na masculinização das tilápias e, nas condições estudadas possibilitou melhor peso final e comprimento final. Devem-se rever as vantagens e modo de aplicação dessa técnica de masculinização, em relação aos prejuízos à saúde dos peixes.
4. Os peixes não alimentados com adição do hormônio se mostraram mais resistentes e com seus fígados sem alterações. Em juvenis cultivados em tanques-rede, cujo lote de peixes não revertidos apresentou cerca de 84% de machos, o cultivo de machos revertidos não influenciou o crescimento e a sobrevivência dos mesmos, e os dois lotes (revertidos e não revertidos) apresentaram respostas semelhantes. Mais pesquisas com nutrição, genética e manejo ainda deve ser realizada no sentido de se substituir a técnica de reversão sexual por meio de adição de hormônio na dieta no cultivo de tilápia.

5. Os problemas causados ao fígado dos peixes na fase inicial persistem nas outras fases de cultivo e são agravados pelo alto teor de proteína na dieta e menor valor nutricional dos ingredientes utilizados na elaboração das dietas comerciais. Apesar de os hepatócitos serem células com capacidade de metabolizar e neutralizar substâncias tóxicas e eliminá-las do organismo do peixe, resultados obtidos no presente estudo indicam que os hepatócitos se tornam mais suscetíveis a outros agentes hepatotóxicos, pois o fígado tem importante papel na digestão e aproveitamento de nutrientes, os quais em excesso podem ser armazenados nos hepatócitos, já comprometidos com a toxicidade do hormônio.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)