



ESTER SIMIONE COME

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS PARA SINCRONIZAÇÃO EM
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM
DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS**

LAVRAS – MG

2018

ESTER SIMIONE COME

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS PARA SINCRONIZAÇÃO EM
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM
DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, área de
concentração Produção e nutrição de
não ruminantes, para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador

Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

LAVRAS – MG

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pela própria autora.

Come, Ester Simione.

Parâmetros reprodutivos para sincronização em Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas com diferentes níveis nutricionais / Ester Simione Come. - 2018.

64 p.

Orientador: Rilke Tadeu Fonseca de Freitas.
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. maturação gônadal. 2. parâmetros hematológicos. 3. fecundidade absoluta e relativa. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ESTER SIMIONE COME

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS PARA SINCRONIZAÇÃO EM
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM
DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, área de
concentração Produção e nutrição de
não ruminantes, para a obtenção do
título de Mestre.

APROVADA em 22 de Agosto de 2018

Dr. Luis David Solis Murgas	UFLA
Dr. Rafael Vilhena Reis Neto	UNESP
Dra. Leila de Genova Gaya	UFSJ

Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

Dedicatória

Aos meus pais: Boaventura e Celestina pela presença constante e o apoio fundamental para o que sou hoje.

Aos meus sogros: Tomas e Maria pelo carinho.

Aos meus queridos filhos: Samira, Ivan, Sheinase, Adnilson e Marnete pelo sorriso e abraço nos momentos mais difíceis e ao meu neto Kerson.

Aos meus irmãos: Ana, Simião, Elias, Miguel e Samuel pelo companheirismo, amor em momentos de descontração.

Aos meus cunhados, minhas cunhadas, pelo carinho e à minha amiga Teresa pela confiança e amizade.

Vocês foram e serão importantes em todos os passos que seguir e estarão sempre presentes em meu coração.

Muito obrigada!

OFEREÇO

A meu orientador Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Neste momento, em que concludo uma longa etapa, aproveito para agradecer-lhe pela orientação, dedicação e ensinamentos transmitidos, pelas experiências acadêmico-científicas que, com certeza, serão de grande valia à minha vida. Agradeço-lhe a confiança que depositou em mim.

Ao meu grande amigo e esposo Moises, pelo amor, companheirismo, dedicação, paciência, pelo apoio constante nos momentos difíceis, pois foi fundamental para a concretização de mais uma etapa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que com tua bondade e misericórdia tem me guiado por caminhos certos e seguros.

À Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia, pelo aceite e oportunidade de realização do mestrado.

À Estação de Piscicultura da UFLA, pelo apoio na execução de meu experimento.

À Empresa Aqua Cultura Supra pela doação de ração comercial para a realização do experimento.

Ao Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pela orientação e sugestões durante a execução do projeto.

À Profa. Dra. Priscila Vieira Rosa, por ter me autorizado a utilizar os animais e pelas importantes sugestões antes e durante o experimento.

Ao Prof. Dr. Luis David Solis Murgas, pela amizade, apoio e incentivo desde o início do curso e pelas sugestões valiosas que serviram para a melhoria de meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Rafael Vilhena Reis Neto pelas suas importantes sugestões dadas na minha defesa de minha dissertação.

À Profa. Dra. Leila de Genova Gaya pelas sugestões ao preenchimento do formulário para comissão de ética e em minha defesa.

À Profa. Dra. Maria Emília Sousa Gomes Pimenta pela confiança, disponibilidade em me ajudar e pela sua humildade que guardarei por toda a vida.

À Dra. Viviane de Oliveiras Felizardo, por ser minha Coorientadora, pela amizade e pelas valiosas sugestões no aprimoramento deste trabalho.

Ao Sr. Eleci, responsável pela Estação da Piscicultura, pela sua disponibilidade e apoio fundamentais durante o experimento.

Aos Professores, técnicos e demais funcionários da UFLA, pela receptividade e atenção.

Ao Sr. Carlos, Secretário do curso de Pós-graduação do DZO pela sua atenção e prestatividade.

Aos meus colegas do setor da piscicultura, Tima, Acsa, Aline, Daniella, Bianca, Diana, Graziela, Vitoria, Bruna, Cicero, Pedro, Filipe e Renato, pela amizade mantida desde o início do mestrado e pelos bons momentos de convívio.

Aos familiares: meus tios, tias, primos, primas, amigos e amigas, pela amizade que, mesmo distante, nunca nos separou.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para meu desenvolvimento científico e à realização deste trabalho.

O meu muito obrigada!

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	8
RESUMO GERAL	10
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERÊNCIA TEÓRICA	3
2.1 Aquicultura	3
2.3 Melhoramento genético de tilápias.....	4
2.4 Reprodução.....	5
2.5 Maturação gonadal e a fecundidade	7
2.6 Nutrição dos reprodutores	9
2.7 Sincronização de tilápia para maturação gonadal.....	10
2.8 Hematologia.....	11
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	12
REFERÊNCIAS	13
RESUMO.....	22
4. INTRODUÇÃO.....	24
5. MATERIAL E MÉTODO	26
5.1 Caracterização do local	26
5.2 Seleção dos reprodutores.....	26
5.3 Dieta experimental.....	27
5.4 Delineamento experimental.....	28
5.5 Parâmetro físico-químico da água	28
5.6 Manejo alimentar.....	28
5.7 Coleta dos ovócitos.....	28
5.8 Taxa de fecundidade absoluta e relativa por lote	29
5.9 Coleta e análise de sangue	30
5.10 Índice gonadossomático e hepatossomático	30
5.11 Análises estatísticas	31
6. RESULTADOS	32
6.1 Parâmetros morfométricos e reprodutivos de fêmeas.....	33
6.2 Parâmetros sanguíneos	38
7. DISCUSSÃO	40
8. CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição das duas rações experimentais utilizadas como fonte nutricional	27
Tabela 2 Número de animais por grupo experimental	28
Tabela 3 Estatística descritiva dos parâmetros da Tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com dietas contendo 32 e 40% PB.	32
Tabela 4. Média das variáveis da extrusão das fêmeas de <i>Oreochromis niloticus</i> alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de PB e submetidas ao período alimentar de 14 e 28 dias.	33
Tabela 5. Médias das variáveis de extrusão de fácil e difícil das fêmeas de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de proteína bruta (PB).	34
Tabela 6 Parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápias-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com dois níveis de proteína bruta durante o período experimental (n=320).	35
Tabela 7 Valores médios da cavidade celômica M1, M2 e M3 das fêmeas de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) durante o período reprodutivo (n=320).	36
Tabela 8. Variáveis de índices reprodutivos de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) fêmeas alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de proteína bruta (PB) e (n = 160 para IGS e IHS; n = 320 para ID, FA, FARP e FARC).	37
Tabela 9 Valores médios dos parâmetros hematológicos de matrizes de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com diferentes níveis de PB durante o experimento	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Desenvolvimento vitelogênese (A) e fase de maturação final (B) no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal em fêmeas de peixe	7
Figura 2 Valores médios da extrusão fácil no ponto em valores percentuais.	34
Figura 3 Valores das medidas da posição das nadadeiras peitorais (M1) de fêmeas de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) em diferentes tempos de avaliação (A) e na interação entre a dieta e o tempo de avaliação (B).	37
Figura 4 Médias percentuais de hematócritos para os dois tempos de avaliação em tilápia-de-Nilo <i>O. niloticus</i>	39
Figura 5 Médias de proteínas plasmáticas para os dois tempos de avaliação em tilápia-de-Nilo <i>O. niloticus</i>	39

RESUMO GERAL

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) possui desova parcelada e se reproduz naturalmente em cativeiro, ao longo do ano, quando as condições são adequadas. Suas limitações reprodutivas são a baixa fecundidade e assincronia da maturação, que podem ser superadas pelo controle de diversos fatores bióticos e abióticos, incluindo a nutrição. Por isso, o objetivo traçado para este trabalho foi de avaliar os parâmetros reprodutivos para sincronização em Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas em diferentes níveis nutricionais. Foram utilizadas 320 matrizes de tilápias com o peso médio de $229,35 \pm 1,82$ g. Após análises morfométricas, as fêmeas foram distribuídas aleatoriamente, em 16 caixas de polietileno com capacidade individual de 500L de água, em um sistema de recirculação de água e temperatura controlada de 27° C. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2×2 e uma densidade de 20 animais por caixa. Os tratamentos foram constituídos por dois tipos de ração comerciais (32 e 40% PB) e 2 intervalos de avaliação (14 e 28 dias) com 4 repetições. As variáveis avaliadas foram peso da desova (g), diâmetro dos ovócitos (mm), porcentagem de ovócitos com a vesícula germinativa na posição periférica (PPGV%), larguras da cavidade celômica (M1, M2 e M3 em cm), índice gonadossomático (IGS%), índice hepatossomático (IHS%), índice da desova (ID%), frequência absoluta (FA), hemácias ($10^6 \mu\text{l}$), glicose (mg dL^{-1}), hematócrito (%) e proteína (mg dL^{-1}). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste T por intermédio do pacote estatístico SAS®, assumindo um nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). Diferenças estatísticas não foram observadas nos níveis 32 e 40% de PB em todos parâmetros avaliados ($p > 0,05$). Para o tempo de coleta (14 e 28 dias), foram verificadas diferenças estatísticas nas larguras em centímetros da cavidade celômica (M1), porcentagem de hematócrito (%) e concentrações de proteína (mg dL^{-1}) ($p < 0,05$). Os tratamentos utilizados não foram eficientes para a sincronização da reprodução das fêmeas de tilápias nas condições empregadas.

Palavras-chave: maturação gnadal, parâmetros hematológicos, fecundidade absoluta e relativa.

GENERAL ABSTRACT

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) presents split spawning and reproduces naturally in captivity throughout the year, under appropriate conditions. It displays reproductive limitations such as low fecundity and asynchronous maturation, which may be controlled by various biotic and non-biotic factors, including nutrition. Therefore, the objective of this work was to evaluate reproductive parameters for synchrony of tilapia nourished through different nutritional level diets. Three hundred and twenty tilapia females with an average weight of 229.35 ± 1.82 g were used. After morphometric analysis the females were randomly distributed in 16 polyethylene boxes, each having 500L capacity under a water recirculation system and controlled temperature of 27 °C. An entirely random design in a 2×2 factorial scheme at a density of 20 animals per box was applied. Treatments consisted of two types of feed (32 and 40% of crude protein) at 2 evaluation periods (14 and 28 days) with 4 replications. The following parameters were assessed: spawning weight (g), oocyte diameter (mm), oocyte percentage displaying germinal vesicle at peripheral position (GVPP%), celomic cavity length (M1, M2 and M3 in cm), gonadosomatic index (GSI%), hepatosomatic index (HIS%), spawning index (DI%), absolute frequency (AF), red blood cells ($10^6 \mu\text{l}$), glucose (mg dL^{-1}), hematocrit (%) and protein (mg dL^{-1}). The obtained results underwent variance analysis and the average values were compared via T test through SAS[®], at a statistical significance level of 5% ($p < 0.05$). No statistical differences were observed at 32 and 40% crude protein level for all evaluated parameters ($p > 0.05$). In relation to data collect period (14 and 28 days), statistical differences were verified for the celomic cavity length in centimeters (M1), hematocrit percentage (%), protein concentrations (mg dL^{-1}) ($p < 0.05$). The currently used treatments were not efficient for tilapia female reproduction synchrony under the employed conditions.

Key-words: gonadal maturation, hematologic parameters, absolute and relative fecundity.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade de produção de alimentos que tem se expandido no mundo, nos últimos anos, devido ao crescimento demográfico e a constante busca por alimentos saudáveis, ao mesmo tempo em que a pesca extrativa já não atende a essa demanda (FAO, 2012; REIS, 2016). Este setor da produção animal vem apresentando maiores taxas de crescimento, tendo atingido 81,4 milhões de toneladas (t), em 2016, com um valor estimado de receitas de R \$ 590,8 bilhões (FAO, 2016).

No Brasil, a aquicultura tem seguido as tendências do crescimento mundial, pois, em 2015, a aquicultura brasileira produziu um total de 574.164 t de pescado, avaliado em R\$ 4,4 bilhões, sendo a maior parte (69,9%) oriunda da criação de peixes, representando um incremento de 2,22% em relação à produção de 2014 (IBGE, 2016). Neste contexto, a aquicultura aparece como a alternativa mais viável, para continuar aumentando a oferta nos próximos anos, visto que a pesca se encontra com a produção estabilizada desde a década de 1990 (FAO, 2014a). Além disso, Brasil é um país de clima tropical, que possui muita água o que permite que a tilápia tenha crescimento, durante o ano todo, em grande parte do território, além de ser um grande produtor e exportador de soja e outros grãos que formam a base da alimentação dos peixes (LOVSHIN, 2000).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie mais produzida no Brasil, responsável pela produção de 357.639 t, em 2017, o que representou, aproximadamente, 51,7% da piscicultura nacional e 39% da produção total de pescados em aquicultura de água doce, segundo dados apresentados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2018). Esta espécie vem se destacando, uma vez que se trata de uma espécie com tecnologia de cultivo dominada e com potencial de ampla expansão em médio/curto prazo (SARY, 2017). Esta espécie possui características reprodutivas que contribuem para programas de melhoramento genético de tilápia, como alta prolificidade, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa elevada, desova frequente e parcelada (POPMA; GREEN, 1990; TURRA et al., 2010). As fêmeas de tilápia não atingem a maturidade sexual ou desovam ao mesmo tempo. Essas características fazem com que a reprodução simultânea de um número grande de famílias de Tilápia continue a ser um desafio para espécies com comportamentos assíncronicos de desova (THANH et al., 2010), dificultando, assim, os estudos comparativos de diferentes genótipos e a estimação de vários parâmetros (por exemplo, herdabilidades e correlações genéticas) e valores genéticos.

Para a otimização do processo de produção da tilápia, exige-se o fornecimento de ração balanceada, contendo proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais de acordo com a

exigência da fase de crescimento da espécie (LASSEN, 2016). Os estudos têm enfatizado, também, a importância da nutrição de reprodutores para melhorar o desenvolvimento produtivo das espécies cultivadas (COWARD; BROMAGE, 2000). A preparação das dietas artificiais adequadas, durante o período de pré-desova, tem grande impacto na qualidade dos ovos e larvas. Com isso, o conhecimento da exigência nutricional dos peixes é um dos pontos mais importantes para a formulação de dietas equilibradas e de baixo custo além de diminuir a excreção de nitrogênio na água (BOBE; LABBÉ, 2010).

O conhecimento das técnicas de sincronização de maturação gonadal das tilápias sobre a nutrição pode trazer algumas vantagens para o programa de melhoramento genético. Com a sincronização, é possível identificar grupos de fêmeas com o maior número de maturação que pode ser uma alternativa prática, para melhorar o desempenho reprodutivo de fêmeas, mantendo estes animais com uma frequência da produção de grupos de progênie com tamanho e idade possíveis. Isso reduz os efeitos desordenados do tamanho inicial e da idade, durante estudos comparativos de diferentes genótipos (por exemplo, estirpes, combinações cruzadas, grupos) (PUTTARAKSAR, 2004).

A maturação gonadal de tilápias é influenciada por fatores ambientais (por exemplo, fotoperíodo, temperatura, disponibilidade de alimentos) e fatores sociais (estímulos sociais trocados entre as fêmeas vizinhas) (PUTTARAKSAR, 2004). Para controlar o processo da maturação das gônadas, precisa-se entender os mecanismos que desencadeiam a maturação, bem como o impacto de vários fatores internos e externos que governam esse processo com a nutrição. Sendo assim, a estratégia para a sincronização de desova envolve a manutenção de reprodutores em instalação de contenção adequada (por exemplo: hapas), condicionada pela alimentação adequada e avaliação da condição da maturação sexual das fêmeas.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar parâmetros reprodutivos para sincronização em Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas com diferentes níveis nutricionais; avaliar a influência da dieta com diferentes níveis nutricionais na sincronização da maturação gonadal de tilápias; determinar o efeito das dietas na fecundidade absoluta e relativa e no desenvolvimento dos ovócitos; estabelecer critérios de manejo alimentar de matrizes para garantir melhor resultado reprodutivo e avaliar o índice gonadossomático, hepatossomático e parâmetros hematológicos das matrizes desta espécie.

2. REFERÊNCIA TEÓRICA

2.1 Aquicultura

A aquicultura é uma atividade que vem se tornando cada vez mais importante como fonte de proteína para o consumo humano, sendo a atividade que mais tem crescido no Brasil e no mundo (DUARTE et al., 2009). Esta atividade tem se expandido no mundo, nos últimos anos, devido ao crescimento demográfico e a constante busca por alimentos saudáveis, ao mesmo tempo em que a pesca extrativa já não atende a essa demanda (FAO, 2012; REIS, 2016). Este setor da produção animal vem apresentando maiores taxas de crescimento, tendo atingido 81,4 milhões de toneladas (t), em 2016, com um valor estimado de receitas de R \$ 590,8 bilhões (FAO, 2016).

O pescado tem sido considerado importante e promissora fonte de proteínas de origem animal de alto valor biológico, ácidos graxos insaturados e vitaminas, bem como apresenta baixo teor de colesterol, constituindo uma opção de consumo mais saudável do que as outras carnes para o consumo humano (TOUFIQUE, 2014). Estima-se que o pescado represente 16,7% de toda a proteína animal consumida por humanos no mundo e 6,5% de toda a proteína, considerando as duas origens, animal e vegetal. Estes valores são superiores aos das carnes de suíno, frango, bovino, ovino e caprino, as mais consumidas em ordem do consumo (FAO, 2014a; FAO, 2014; BRABO et al., 2016).

A produção mundial de tilápias, nos últimos anos, foi influenciada fortemente pela rápida expansão da espécie *Oreochromis niloticus* L., cultivada em mais de 100 países incluindo Brasil (KUBITZA, 2000). A *Oreochromis niloticus* L. é a espécie mais importante do século XXI e representa cerca de 72,5% da produção mundial da tilápia cultivada em 2010 (FAO, 2010).

2.2 Produção e consumo de tilápia no Brasil

O Brasil apresenta ótimas condições para a piscicultura pelo grande potencial hídrico para a produção de peixes, seja ela marinha ou continental. Além disso, é um dos maiores produtores de grãos, especialmente soja e milho, que são os ingredientes básicos na fabricação de rações (DUARTE, 2017). Tanto a produção quanto o consumo do pescado no Brasil vêm crescendo a cada ano. No caso da produção, dados do IBGE apontam que, em 2015, foram 483 mil toneladas de peixe com incremento de 1,5% em relação a 2014. De acordo com o Ministério

da Agricultura, o consumo do pescado no Brasil é de 14,4 por habitante/ano, ultrapassando os 12,0 kg, recomendados pela Organização Mundial da Saúde (MAPA, 2016).

Apesar de o Brasil ser um grande produtor de frango, bovinos e suínos, a aquicultura foi o setor de carnes que apresentou maior incremento percentual em produção entre 2004 e 2014, com crescimento anual médio de quase 8% contra 5,1% para bovinos, 4,1% para o frango e 2,9% para suínos, ainda, destaca-se a produção de tilápia no Brasil. Enquanto a produção de peixes cresceu em torno de 10%, no período de 2004 a 2014, a tilapicultura teve um crescimento da ordem de mais de 14,2% (KUBITZA, 2015).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é, atualmente, a espécie de peixe mais cultivada no Brasil, produzida, em sua grande maioria, em sistemas intensivos, os quais demandam a implantação de tecnologias, monitoramento de qualidade de água e utilização de alimento completo para atingir o máximo desempenho (MPA, 2018). Os sistemas intensivos de produção (tanque-rede e gaiolas) têm como característica contínua a renovação da água, o que promove a remoção dos metabólitos e dejetos produzidos pela tilápia, mantendo assim a qualidade de água (VICENTE; FONSECA-ALVES, 2014).

Esta espécie destaca-se por apresentar características zootécnicas, como aceitar ampla variedade de alimentos, apresentar rápido crescimento e reprodução, ter rusticidade e ótima resistência a doenças, ao superpovoamento, a baixos níveis de oxigênio dissolvido e a altas concentrações de amônia, tolerando um amplo limite de temperatura, apresentando alta prolificidade e poder ser aclimatada em altas concentrações de salinidade (SILVA, 2009). Além disso, a tilápia é apreciada por gerar um pescado de alta qualidade, carne branca, de excelente paladar e textura; a sua pele representa uma fonte de renda a mais, para o piscicultor ou para a indústria de filés, que é utilizada no curtimento (VIEIRA, 2017).

2.3 Melhoramento genético de tilápias

Em programas de melhoramento genético de peixes, algumas ferramentas podem ser utilizadas, destacando-se a seleção, os cruzamentos e hibridização e a manipulação cromossômica (TURRA et al., 2010). A seleção é o primeiro passo para o melhoramento e, antes de ser realizada, é preponderante que seja originada a partir de uma população base (PETERSEN et al., 2012), na ordem de 50 a 100 (NGUYEN, 2016,) com a variabilidade genética aditiva para aumentar o potencial de seleção (PETERSEN et al., 2012) e gerenciar a taxa de endogamia abaixo de um por cento por geração (NGUYEN, 2016).

Além da variabilidade genética, o sucesso da seleção dependerá também da transferência de genes para os descendentes (herdabilidade) que, no caso de peixes, apresenta valores relativamente altos, para as características de importância econômica, que combinados com a grande fecundidade e com o curto intervalo de gerações permitem ganhos genéticos de 10 a 20% por geração para taxa de crescimento, valores de cinco a seis vezes maiores do que os de espécies terrestres, sendo as características de crescimento as de maior relevância econômica (OLIVEIRA et al., 2015; OLIVEIRA, 2013).

O melhoramento genético de tilápias no Brasil teve início com a importação de 30 famílias da variedade “genetically improved farmed tilapias (GIFT)” providas da Malásia. O estabelecimento deste núcleo de melhoramento permitiu a realização de estudos, para a avaliação genética, com utilização de métodos quantitativos com controle individual de pedigree e seleção, sob as condições ambientais do país (SANTOS et al., 2011). E, em 2005, o Brasil foi o primeiro país da América Latina a receber a linhagem GIFT, por intermédio da Estação Experimental de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR) e foram importadas 30 famílias (JÚNIOR et al., 2008). Pesquisas recentes mostram que, mesmo após terem sido selecionadas, as linhagens brasileiras continuam com altos valores de variabilidade e diversidade genética (OLIVEIRA et al., 2011).

Na tilapicultura, as características reprodutivas, como rápido crescimento, alta prolificidade, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa, são as de maior relevância econômica em programas de melhoramento de tilápias, e a taxa de crescimento é o principal propósito de seleção nos poucos programas de melhoramento de peixe existentes (PORTO et al., 2015; TURRA et al., 2010). O programa do melhoramento para tilápia tem como objetivo melhorar a gestão da endogamia dentro de uma população, controlar os efeitos das interações genótipo por ambiente, produzir simultaneamente grande número de famílias de irmãos completos e meios-irmãos para espécies com comportamento assíncrono de desova, manter registros de pedigree e disseminar espécies melhoradas para produção generalizada para espécies de animais aquáticos (NGUYEN, 2016). O desenvolvimento do programa de melhoramento genético não é só para atender à crescente demanda mundial por pescado, mas também para reduzir os custos de produção, melhorar a sua reprodução, o aproveitamento alimentar e a qualidade dos produtos (GJEDREM, 2000; PERAZZA, 2015).

2.4 Reprodução

A reprodução é o processo biológico, por meio do qual as espécies são perpetuadas a combinações genéticas gerando padrões complexos em mecanismos de reprodução. Segundo

Cabrita et al. (2008) e De Souza, (2016), esses processos contínuos permitem a geração de gametas maduros haploides, a partir de células germinativas imaturas diploides, com o propósito final de gerar proles viáveis.

A reprodução dos peixes é dividida em duas etapas bem distintas: a primeira etapa é marcada nas fêmeas pela proliferação das oogônias e o desenvolvimento oocitário. A segunda parte é marcada pelo crescimento e maturação oocitária e gonadal (MYLONAS et al., 2010; DA SILVA RIBEIRO et al., 2018).

A reprodução ocorre em ciclos que envolvem o desenvolvimento dos gametas, a maturação e desova (COWARD et al., 2002). A fisiologia reprodutiva da tilápia é claramente influenciada por uma série de fatores endógenos e exógenos inter-relacionados. Fatores exógenos conhecidos por desempenharem papéis reguladores na fisiologia reprodutiva da tilápia incluem intensidade de luz, temperatura da água, ciclos da lua, disponibilidade dos alimentos, entre outros fatores (SCHULZ; MIURA, 2002; ALMEIDA, 2013). Todos estes eventos da cascata reprodutiva são controlados por inúmeros fatores endócrinos ao longo do eixo Hipotálamo-Hipófise-Gônadas. E também interage com outras importantes funções fisiológicas, como nutrição, crescimento (IZQUIERDO; COL., 2001; ANDRADE, et al., 2015).

No mecanismo neuroendócrino da reprodução de peixes (Figura 1), é dada ênfase ao Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), neurotransmissor produzido e secretado pelo hipotálamo, que atua como fator estimulador na liberação de hormônio Luteinizante (LH) e, em menor grau, do Hormônio Folículo Estimulante (FSH). Os hormônios gonadotróficos folículos estimulantes e luteinizantes (FSH e LH) atuam como os principais reguladores durante a vitelogênese e maturação dos gametas. Acredita-se que a melatonina esteja envolvida no mecanismo neuroendócrino como resposta ao fotoperíodo, inibindo a liberação de GnRH. A melatonina atua, também, acelerando a ação do hormônio indutor da maturação (MIH) e, conseqüentemente, a retomada do ciclo celular meiótico (SOUTO et al., 2017).

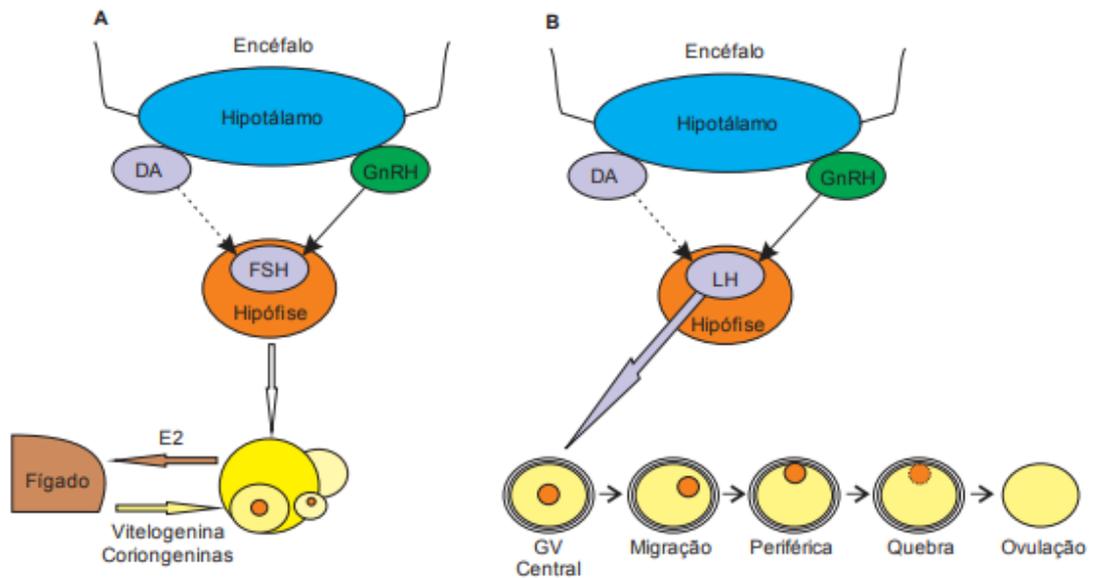


Figura 1 Desenvolvimento vitelogênese (A) e fase de maturação final (B) no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal em fêmeas de peixe

Fonte YARON; LEVAVISIVAN, 2011, (2011).

O ciclo reprodutivo em fêmeas tem início, a partir da proliferação mitótica das oogônias que entram em meiose, dando origem aos oócitos, que estacionam na fase de diplóteno (tardio) da primeira divisão meiótica, seguido, posteriormente pelo desenvolvimento oocitário por sequestro de vitelogenina e proteínas coriogênicas sintetizadas no fígado, que são incorporadas por micropinocitose, promovendo o aumento do diâmetro dos oócitos, caracterizando a vitelogênese (Figura 1A) (YARON; LEVAVISIVAN, 2011; DE SOUZA, 2016). Completada a vitelogênese, com a formação dos oócitos pós-vitelogênicos, tem início a fase de maturação (Figura 1B). Esta fase é descrita morfológicamente pela migração da vesícula germinativa (GV) em direção ao polo animal, seguida da desintegração de sua membrana, estágio denominado de quebra da vesícula germinativa (GVBD), em que há a condensação cromossômica e a liberação do primeiro corpúsculo polar, marcando a primeira divisão meiótica (YARON; LEVAVISIVAN, 2011).

2.5 Maturação gonadal e a fecundidade

A tilápia apresenta maturação sexual precoce com desova parcelada e reprodução natural em viveiros. Ela atinge sua maturação sexual com tamanho aproximado de 152 mm e com 40 gramas de peso (NOGUEIRA, 2003). O alto grau de cuidado parental exibido pela tilápia desempenha um papel importante em sua fisiologia reprodutiva. Este cuidado parental em tilápias está associado com o aumento no tamanho do ovo e uma correspondente redução

em sua fecundidade absoluta, expressa por uma redução do número de ovos por desova (COWARD; BROMAGE, 2000). As gônadas das fêmeas consistem em ovários pares alongados, achatados dorsoventralmente, situados na cavidade celômica, a qual está ligada pelo mesovário em posição ventral à bexiga natatória. Após a fecundação, a fêmea protege a prole incubando os ovos na boca (NOGUEIRA, 2003).

O desenvolvimento gonadal é uma chave para a compreensão do processo reprodutivo. Além disso, deve-se levar em conta que a gônada é o centro de todos fatores hormonais que regulam a reprodução (ANTON, 2004). Assim, a maturação dos gametas é regulada pelas gonadotropinas que estimulam as gônadas a sintetizar hormônios esteroides. Ao longo do processo de desenvolvimento gonadal, diferentes esteroides sexuais apresentam importância em cada fase, porém as gonadotropinas influenciam a produção de todos eles. A influência da gonadotropina sobre a gônada varia, ao longo do processo de maturação, de modo que a gônada pode ser mais ou menos receptiva à gonadotropina, cujo efeito também varia, ao longo do desenvolvimento gonadal, atuando na produção de esteroides distintos (NAGAHAMA; YAMASHITA, 2008).

A fecundidade depende do volume da cavidade celomática disponível para alojar os ovários maduros e do tamanho (volume) desses ovócitos. Na fase final de desenvolvimento, os ovócitos maduros apresentam tamanhos bastante diferentes. E o número de ovócitos que completam seu desenvolvimento é eventualmente eliminado por fêmea de uma dada espécie, durante o período reprodutivo e é considerado como sendo fecundidade individual ou absoluta (ARAUJO, 2009).

Tanto a fecundidade como o diâmetro de ovócitos maduros apresentam variações inter e intraespecíficas, latitudinais, entre períodos reprodutivos sucessivos e entre indivíduos de mesmo tamanho em um mesmo período. A fecundidade varia também com o tamanho da fêmea, aumentando com o crescimento, estando mais relacionada ao comprimento do que à idade do indivíduo (VAZZOLER, 1996; ARAUJO, 2009). Assim, a fecundidade é o número total de ovos produzidos por cada peixe expresso em termos de peso dos ovos. A fecundidade reduzida, relatada em várias espécies de peixes marinhos, pode ser causada pela influência de um desequilíbrio de nutrientes no sistema endócrino cérebro-hipófise-gônadas ou pela restrição na disponibilidade de um componente bioquímico para a formação de ovos (IZQUIERDO et al., 2001).

O índice gonadossomático (IGS) evidencia o percentual de massa que as gônadas representam no peso corporal e é utilizado como importante parâmetro reprodutivo para fêmeas

e machos. Em machos, esse índice nem sempre representa adequadamente a condição reprodutiva, particularmente em peixes. O IGS é associado à maturidade e à fecundidade dos indivíduos (VAZZOLER, 1996). E constitui o fator de condição (K) que faz parte do índice biológico, utilizado como ferramenta que fornece informações sobre o estado fisiológico do peixe ou como os peixes utilizam os recursos naturais do ambiente para gerar energia. Esses índices podem variar, de acordo com as condições de alimentação e desenvolvimento gonadal e são usados, para algumas espécies, como indicadores do período reprodutivo (BARROS et al., 2012). Segundo Querol (2002), o índice hepatossomático (IHS) parece estar relacionado com o acúmulo de reservas energéticas para o período de inverno. Este fato é evidenciado pela baixa correlação entre o IHS e o IGS. A participação do fígado na maturação ovocitária pode refletir no aumento do IHS na maturação inicial e a redução na maturação avançada (DO CARMO, et al., 2015).

2.6 Nutrição dos reprodutores

A evolução tecnológica na nutrição e alimentação de peixes cultivados é indispensável, uma vez que este manejo influencia no desenvolvimento reprodutivo e qualidade dos óvulos e esperma (NAVARRO et al., 2010). A maioria dos nutrientes ofertados nas dietas são direcionados para o desenvolvimento das gônadas, espermatozoides, ovócitos e processo da ovulação; assim, é fundamental que a nutrição dos reprodutores seja adequada. Entretanto os níveis nutricionais podem afetar o desenvolvimento e a função dos órgãos reprodutivos, além de acarretar alteração do funcionamento do sistema endócrino envolvido na reprodução (MAGGIONI et al., 2008). A proteína também influencia na fecundidade, na fertilização, na taxa de eclosão e no tamanho do ovo (GUNASEKERA et al., 1996).

No que se refere à nutrição para o peixe reprodutor, dietas desequilibradas e o fornecimento inadequado de nutrientes podem prejudicar o desenvolvimento das gônadas e limitar a quantidade e a qualidade dos ovos das fêmeas (BOMBARDELLI, 2017; IZQUIERDO et al., 2001; JOHNSTON et al., 2007). Pode ainda afetar diretamente o funcionamento e a morfologia do fígado, importante no metabolismo e fornecimento de energia (BOMBARDELLI et al., 2009). A dieta ofertada aos animais deve conter os nutrientes e recursos energéticos essenciais ao crescimento, reprodução e saúde. O valor nutricional em proteína para peixe é usualmente expresso como porcentagem fixa da dieta ou como a relação de quilocaloria dietética por grama de proteína. Esses níveis de proteína devem assegurar a quantidade adequada de aminoácidos, para atender uma espécie em particular, permitindo que o organismo sintetize suas próprias proteínas para a manutenção de um desenvolvimento e

crescimento adequado (PORTZ; FURUYA, 2012). Na prática, observa-se que, ao se formular uma ração, a proteína é o principal elemento exigido, quando comparada aos demais nutrientes (NRC, 1993; 2011). Esta proteína deve ser suplementada em quantidades mínimas diárias, em dietas de reprodutores, que vai contribuir aos mecanismos fisiológicos reprodutivos (maturação gonadal, fecundidade, formação de gametas, fertilização dos ovos, vitelogênese e desenvolvimento ontogenético inicial) (WASHBURN et al., 1990).

Entre vários nutrientes, as proteínas têm um papel importante na manutenção e reparação de tecidos e na produção de enzimas, hormônios e anticorpos (TU et al., 2015). Além disso, na reprodução das fêmeas, as proteínas estão presentes na vitelogênese e na composição da gema nos ovos dos peixes como lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade dos ovos e a qualidade da prole (OLIVEIRA et al., 2014).

2.7 Sincronização de tilápia para maturação gonadal

O sucesso reprodutivo dos peixes depende de um ajuste temporal havendo a necessidade de existir a sincronização entre o período que o alimento será ofertado (antes ou durante o período reprodutivo) e o momento da liberação dos gametas (desova), principalmente, quando mantidos em cativeiro. O fator determinante, não genético, associado à época e estratégias reprodutivas (desova total ou parcial) e ao processo maturacional, é atribuído ao alimento estocado na fêmea-mãe, antes da ovulação, proporcionando aos descendentes fonte de energia responsável pelo desenvolvimento da prole (IZQUIERDO et al., 2001).

O processo de desenvolvimento ovariano e liberação final de oócitos maduros é sincronizado por uma série inter-relacionada de estímulos internos (endógenos) e externos (exógenos). Fatores exógenos, como temperatura, fotoperíodo, disponibilidade de alimentos, qualidade da água e uma variedade de fatores sociais (por exemplo, contato visual, audível e feromonal com os específicos), são percebidos pelo cérebro e traduzidos em impulsos neurais que estimulam as vias endócrinas do hipotálamo, eixo hipofisário-gonadal para responder de maneira apropriada (NAGAHAMA et al., 1995). Os principais hormônios endógenos envolvidos nesse processo incluem múltiplas formas de hormônio hipotalâmico liberador de gonadotrofina GnRH). Nas fêmeas, o estímulo inicial e praticamente exclusivo do FSH é responsável pelo crescimento do oócito e desenvolvimento folicular. O FSH estimula a síntese de aromatase pelas células da granulosa, que converte a testosterona produzida pelas células da teca em estradiol. O estradiol, por sua vez, estimula a síntese hepática de vitelogenina, responsável pela vitelogênese ou acúmulo de vitelo nos oócitos, ocasionando o seu crescimento. Na segunda fase, conhecida por maturação final, o LH é a gonadotrofina mais importante. Ele

estimula as células foliculares a produzirem a progesterona $17\alpha,20\beta$ -DP em peixes, mais conhecido por hormônio indutor da maturação (HIM), que, portanto liga-se a seus receptores na superfície citoplasmática do oócito, promovendo a formação e ativação citoplasmática do fator promotor da maturação (FPM). Vários processos são, enfim, desencadeados pelo FPM, entre eles, quebra da vesícula germinativa, retomada da meiose, condensação cromossômica, formação do fuso e liberação do primeiro corpúsculo polar, caracterizando a maturação final (NAGAHAMA e YAMASHITA, 2008).

Verifica-se, também, que a mudança ambiental repentina influencia a sincronia da desova (e, em menor escala, a intensidade da reprodução) nas tilápias. Mires (1982) verificou que o choque térmico (frio) melhorou a sincronia da desova nos estoques de *O. niloticus*, embora a sincronia e a intensidade da reprodução tenham cedido à medida que a época de reprodução progredia. O condicionamento da tilápia em alta densidade, antes de sua estocagem em tanques de desova, também, melhorou a sincronia e a intensidade da desova (LITTLE et al., 1993) e é uma técnica muito promissora para manejo de reprodutores.

A estratégia para sincronização de desova envolve a manutenção de estoques de reprodutores separados por sexo em hapas ou estrutura adequada, condicionamento para alimentação apropriada e evolução da condição da maturidade sexual da fêmea (PUTTARAKSAR, 2004). A desova é sincronizada para produzir grupos de progênies uniforme em tamanho e idade possíveis, cujos efeitos desordenados do tamanho e idade inicial, na primeira fase da maturação gonadal, são reduzidos (PUTTARAKSAR, 2004).

2.8 Hematologia

A hematologia é estudo do sangue ou a soma de conhecimentos sobre sangue. A maior parte destas informações consiste em medidas de valores dos parâmetros hematológicos que são utilizados para diagnosticar a enfermidade, indicador do estado fisiológico, nutricional e estresse de manipulação do peixe (TAVARES-DIAS et al., 2015). Estas variáveis podem sofrer alterações, em decorrência de dietas, ação de toxinas (LUMLERTDACHA et al., 1995), enfermidades e outras situações estressantes (SILVEIRA; RIGORES, 1989).

O sangue é um tecido líquido, móvel, do tipo conjuntivo e que está em equilíbrio com praticamente todos os outros tecidos e possui substâncias intersticiais que constituem grande força homeostática do organismo, distribuindo calor, transporta os gases respiratórios e nutrientes (RANZANI-PAIVA et al., 2013). O volume de sangue dos peixes está em torno de 1,5 a 3,0% de seu peso vivo (teleósteos) e cerca de 6,0% nos elasmobrânquios (RANZANI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004). As hemácias são as células que aparecem em maior número

no sangue circulante dos peixes teleósteos, cuja função é o transporte de oxigênio e gás carbônico por meio da combinação da hemoglobina com O₂ formando oxihemoglobina. O tamanho e o número das hemácias revelam variações entre as espécies e, dependendo das condições fisiológicas e ambientais, podem variar entre 1 e 3x10⁶ mm⁻³ e com tamanho variando entre 7 e 36 µm. A função principal destas células é a troca gasosa carreando oxigênio e gás carbônico para os tecidos (SILVA et al., 2012; DIAS et al., 2009).

A glicose é uma fonte importante de energia. Em mamíferos, o equilíbrio dos níveis de glicose, no plasma sanguíneo, é regulado por mecanismos de feedback que envolvem a insulina e o glucagon. Em peixes, o mecanismo de regulação da glicose e o papel do glucagon e seus receptores são pouco conhecidos (VAZ DA COSTA, 2014).

A glicose está relacionada com uma série de fatores que são considerados estressores, no ambiente de cultivo, entre eles, podem-se citar a temperatura, o manuseio dos animais e também durante o transporte (URBINATI et. al., 2004). A proteína plasmática total é um dos parâmetros que pode ser utilizado na piscicultura, pois ela reflete o estado nutricional do animal, a higidez, o balanço hormonal e hídrico (ZAMINHAN et al 2017).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A sincronização da maturação da Tilápia por métodos nutricionais é uma nova abordagem que pode minimizar a reprodução parcelada desta espécie, sem dependência do uso de indução hormonal. Apesar disso, ainda não existem estudos disponíveis sobre a sincronização da maturação gonadal para tilápia.

REFERÊNCIAS

- AGROPECUÁRIO, IBGE Censo. Brasília: IBGE, 2016. **Acesso em**, v. 2, 2016.
- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.174-180, Abril/Junho 2013.
- ANDRADE, E. S., ANDRADE, E. A., FELIZARDO, V., PAULA, A., VERAS, G. C., & MURGAS, L. Biologia reprodutiva de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, n. 1, p. 195-201, 2015.
- ANTÓN, J. M. N. **Efecto del contenido lipídico de las dietas administradas a reproductores de lubina (*Dicentrarchus labrax L.*) sobre el proceso reproductor y sobre la calidad y composición de los huevos**. 2014. 374 p. Tese (Doutorado em Fisiología de la Reproducción) - Universitat de València, València/Espanha, 2004.
- ARAUJO, R. B. Desova e fecundidade em peixes de água doce e marinhos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, Brasil, v. 9, n. 2, p. 24-31, 2º Semestre, 2009.
- BARROS, N.H.C. **Ecologia reprodutiva do mussum, *Synbranchus marmoratus*, Bloch, 1795 (*Osteichthyes: Synbranchidae*) no açude do Rio Grande do Norte, Brasil**. 2012. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/RN, 2012.
- BOBE, J; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 535-548, February, 2010.
- BOMBARDELLI, R. A. et al. Growth and reproduction of female Nile tilapia fed diets containing different levels of protein and energy. **Aquaculture**, v. 479, n.1, p. 817-823, October, 2017.
- BOMBARDELLI, R. A. et al. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1391-1399, 2009.
- BRABO, M. F. et al. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura/Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará

State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, Agosto, 2016.

CABRITA, E; ROBLES, V; HERRÁEZ, P. **Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species**. 1ª Ed. London New York: CRC Press, 2008.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 1-25, March, 2000.

COWARD, K. et al. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 12, n. 1, p. 33-58, March, 2002.

DA SILVA RIBEIRO, C; MOREIRA, R, G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, v. 8, p. 58-61, Fevereiro, 2018.

DE SOUZA, F. M. S. **Variações sazonais dos níveis plasmáticos do esteroide sexual 17 β -estradiol (e2) em fêmeas de matrinxã (*brycon amazonicus*)**.2016. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia – Unesp, Campus de Ilha Solteira, 2016.

DIAS, M. T. D. et al. **Hematologia: ferramenta para o monitoramento de estado de saúde de peixes em cultivo. Tópicos especiais em saúde e criação animal**. 1ª ed. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009.

DO CARMO S, J. P. **Biologia reprodutiva, idade e crescimento da pescada branca *Cynoscion leiarchus (Actinopterygii, Sciaenidae)* na Baía de Sepetiba**. 2015, 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Biologia Animal) -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia, RJ, 2015.

DUARTE, C. M. et al. Will the oceans help feed humanity? **BioScience**, v. 59, n. 11, p. 967-976, December, 2009.

DUARTE, F. O. S. **Caracterização da carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à dietas suplementadas com óleo de peixe**. 2017. 195 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás. Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiás, 2017.

FAO - The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014a).

FAO. The state of world fisheries and aquaculture. Rome Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2010, p. 218.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and challenges.** 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i3720e/index.html>>. Acesso em: 23 Setembro, 2017.

FOOD and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The state of world fisheries and aquaculture 2012. Fisheries and Aquaculture Department. Rome, p. 230, 2012.

FAO, Food. Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division (2014). **Production Available in: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S> [Review date: April 2015]**, 2016.

GJEDREM, T. Genetic improvement of cold-water fish species. **Aquaculture research**, v. 31, n. 1, p. 25-33, January, 2000.

GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 146, n. 1-2, p. 121-134, October, 1996.

IZQUIERDO, M. S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 25-42, June, 2001.

JOHNSTON, T. A. et al. Hatching success of walleye embryos in relation to maternal and ova characteristics. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 16, n. 3, p. 295-306, August, 2007.

JÚNIOR, L. E. et al. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 2, p. 233-240, 2008.

KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil. **Panorama da aquicultura**, v. 25, p. 10-23, Julho/Agosto, 2015.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. **Panorama da Aqüicultura**, v. 10, n. 59, p. 44-53, Maio/Junho, 2000.

LASSEN, P. G. **Morfometria e desenvolvimento das gônadas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) suplementadas com sal mineral composto por cobre, manganês e zinco**. 2016. 63 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia/Produção Animal) -Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia/Zootecnia, Porto Alegre/RS, 2016.

LITTLE, D. C.; MACINTOSH, D. J.; EDWARDS, P. Improving spawning synchrony in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v. 24, n. 3, p. 399-405, May, 1993.

LOVSHIN, L. L. Tilapia culture in Brazil. **Tilapia aquaculture in the Americas**, v. 2, p. 133-140, 2000.

LUMLERTDACHA, S. et al. Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. **Aquaculture**, v. 130, n. 2-3, p. 201-218, February, 1995.

MAGGIONI, D. et al. Efeito da nutrição sobre a reprodução de ruminantes: uma revisão. **PUBVET**, v. 2, n. 11, Março, 2008.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de inspeção para identificação de espécies de peixes e valores indicativos de substituições em produtos da pesca e aquicultura**. Brasília, 188 p, 2016.

MIRES, D. A study of the problems of the mass production of hybrid tilapia fry. In: **International Conference on the Biology and Culture of Tilapias, Bellagio (Italy), 2-5 Sep 1980**. 1982.

MPA. 1º. Anuário brasileiro da pesca e aquicultura - Brasil 2018. Disponível em:<http://www.aquaculturebrasil.com/2018/02/19/peixe-br-lanca-o-anuario-da-piscicultura-2018/>. Acesso em: ago. 2018.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and comparative endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 516-534, February, 2010.

NAGAHAMA, Y. et al. Regulation of oocyte growth and maturation in fish. In: **Current topics in developmental biology**. Academic Press, p. 103-145, 1995.

NAGAHAMA, Yoshitaka; YAMASHITA, Masakane. Regulation of oocyte maturation in fish. **Development, Growth & Differentiation**, v. 50, p. S195-S219, May, 2008.

NAVARRO, R. D. et al. Nutrição e Alimentação de Reprodutores de Peixes. **Revista Augustus**, Rio de Janeiro, v 30, n. 30, p. 108-118, Agosto, 2010.

NGUYEN, N. H. Genetic improvement for important farmed aquaculture species with a reference to carp, tilapia and prawns in Asia: achievements, lessons and challenges. **Fish and Fisheries**, v. 17, n. 2, p. 483-506, June, 2016.

NOGUEIRA, A. J. **Aspectos da biologia reprodutiva e padrões de crescimento da tilápia (*Oreochromis niloticus*), Linnaeus, 1758, (Linhagem Chitralada) em cultivos experimentais**. 2003. 94 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). et al. Nutrient requirements of fish. **Nutrient Requirements of Domestic Animal Series**. Academic Press, Oxford, 1993.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL) et al. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National academies press, 2011.

OLIVEIRA, C. A. L. et al. Genetic evaluation of Nile tilapia in a five-year selection. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 10, p. 871-877, Outubro, 2015.

OLIVEIRA, M. M. et al. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. **Animal reproduction science**, v. 150, n. 1-2, p. 62-69, November, 2014.

OLIVEIRA, S. N. Interação genótipo x ambiente para peso vivo e modelagem estatística para seleção genética em tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). 2013. 94 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) –Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

- OLIVEIRA, S. N. et al. Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 2, Outubro, 2011.
- PERAZZA, C. A. et al. Evaluation of ultrasound imaging to predict loin eye area in tambaqui. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, p. 803-809, Setembro, 2015.
- PETERSEN, S. E.; POSNER, M. I. The attention system of the human brain: 20 years after. **Annual review of neuroscience**, v. 35, p. 73-89, March, 2012.
- POPMA, T. J.; GREEN, B. W. **Sex reversal of tilapia in earthen ponds**. Aquacultural production. Auburn University, Alabama, 1990.
- PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, proteína e aminoácidos. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. Florianópolis**, p. 65-77, 2012.
- PORTO, E. P. et al. Responses to selection for performance traits in Nile tilapia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 9, p. 745-752, September, 2015.
- PUTTARAKSAR, N. **GIFT technology manual: an aid to tilapia selective breeding**. WorldFish Center. EUA Fish, 2004.
- QUEROL, M. V. M.; QUEROL, E.; GOMES, N. N. A. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (*Osteichthyes, loricariidae*), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 92, n. 3, p. 79-84, Setembro, 2002.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. T. **Hematologia de peixes brasileiros. Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, p. 89-120, 2004.
- REIS, V. R.; DE ALMEIDA, F. L.; PIFERRER, F. Produção de populações monossexo em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 1, p. 22-28, Janeiro/Março, 2016.
- RENZANI-PAIVA, M. J. T. et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Editora da Universidade Estadual de Maringá-EDUEM, 2013.
- SANTOS, A. I. et al. Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 33-43, 2011.

SARY, C. et al. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 7, n. 4, p. 423-432, Outubro/Dezembro, 2017.

SCHULZ, R. W.; MIURA, T. Spermatogenesis and its endocrine regulation. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 43-56, January, 2002.

SILVA, J.W.B. **Tilápias: biologia e cultivo. Evolução, situação atual e perspectivas da tilapicultura no Nordeste Brasileiro**. Fortaleza: Edições UFC, 326p. 2009.

SILVA, R. D. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 99-107, Dezembro, 2012.

SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normais de *Oreochromis aureus* em cultivo. **Revista Latina Acuicultura**, v. 39, p. 54-56, 1989.

SOUTO, C. N. et al. Visão geral sobre reprodução de peixes teleósteos: da anatomia à sinalização molecular. **PUBVET**, v. 11, p. 1074-1187, Novembro, 2017.

TAVARES-DIAS, M. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. **Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas**. Pedro & João Editors, São Carlos, p. 11-30, 2015.

THANH, N. M. et al. Estimates of strain additive and non-additive genetic effects for growth traits in a diallel cross of three strains of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam. **Aquaculture**, v. 299, n. 1-4, p. 30-36, February, 2010.

TOUFIQUE, K. A.; BELTON, B. Is aquaculture pro-poor? Empirical evidence of impacts on fish consumption in Bangladesh. **World Development**, v. 64, p. 609-620, December, 2014.

TURRA, E. M. et al. Uso de medidas morfométricas no melhoramento genético do rendimento de filé da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 1, p. 29-36, Janeiro/Março, 2010.

TU, Y. et al. Growth performance, digestive enzyme, transaminase and GH-IGF-I axis gene responsiveness to different dietary protein levels in broodstock allogonogynetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) CAS III. **Aquaculture**, v. 446, p. 290-297, September, 2015.

URBINATI, E. C. et al. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. **Aquaculture**, v. 229, n. 1-4, p. 389-400, January, 2004.

VAZ DA COSTA, C. A. **Estudo comparativo e caracterização de novos elementos na regulação da homeostasia da glicose em teleósteos**. 2014. 111 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade do Algarve. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Portugal, 2014.

VAZZOLER, A. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM/SBI, 169p. 1996.

VICENTE, I. S. T.; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES, C. E. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392-398, Julho, 2014.

VIEIRA, V. P. et al. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em Maringá-PR. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 3, n. 3, 2017.

WASHBURN, B. S. et al. Dietary effects on tissue composition, oogenesis, and the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 90, n. 2, p. 179-195, October, 1990.

YARON, Z.; LEVAVI-SIVAN, B. **Endocrine regulation of fish reproduction**. Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment. San Diego: Academic Press, v. 2, p. 1500-1508, 2011.

ZAMINHAN, M. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos do surubim do Iguazu (*Steindachneridion melanodermatum*) criados em tanques-rede. **Agrarian**, v. 10, n. 36, p. 181-188, Maio, 2017.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

PARÂMETROS REPRODUTIVOS PARA SINCRONIZAÇÃO EM TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS

ARTICLE 1

REPRODUCTIVE PARAMETERS FOR SYNCHRONY OF TILAPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) FED WITH DIFFERENT NUTRITIONAL VALUE DIETS

RESUMO

Com este artigo, objetivou-se avaliar parâmetros reprodutivos para sincronização em Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas com diferentes níveis nutricionais. Foram utilizadas 320 matrizes de tilápias com o peso médio de $229,35 \pm 1,82$ g. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2×2 e uma densidade de 20 animais por caixa. Os tratamentos foram constituídos por dois tipos de ração comerciais (32 e 40% PB) e 2 intervalos de avaliação (14 e 28 dias) com 4 repetições. As variáveis avaliadas foram peso da desova (g), diâmetro dos ovócitos (mm), porcentagem de ovócitos com a vesícula germinativa na posição periférica (PPGV%), larguras da cavidade celômica (M1, M2 e M3 em cm), índice gonadossomático (IGS%), índice hepatossomático (IHS%), índice da desova (ID%), frequência absoluta (FA), hemácias ($10^6 \mu\text{l}$), glicose (mg dL^{-1}), hematócrito (%) e proteína (mg dL^{-1}). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste T, por intermédio do pacote estatístico SAS[®], assumindo um nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). Para o tempo de coleta (14 e 28 dias), foram verificadas diferenças estatísticas nas larguras em centímetros da cavidade celômica (M1), porcentagem de hematócrito (%) e concentrações de proteína (mg dL^{-1}) ($p < 0,05$). Conclui-se que os tratamentos utilizados não foram eficientes para a sincronização da reprodução das fêmeas de tilápias nas condições empregadas.

Palavras-chave: maturação gonadal, índice gonadossomático, diâmetro de ovócito, fecundidade, parâmetros hematológicos.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate reproductive parameters for asynchronous of tilapia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) fed with different nutritional value diets. A total of 320 female tilapia with a mean weight of 229.35 ± 1.82 g were used. An entirely random design in a 2×2 factorial scheme at a density of 20 animals per box was applied. Treatments consisted of two types of feed (32 and 40% crude protein) at 2 evaluation periods (14 and 28 days) with 4 replications. The following parameters were assessed: spawning weight (g), oocyte diameter (mm), oocyte percentage displaying germinal vesicle at peripheral position (GVPP%), celomic cavity length (M1, M2 and M3 in cm), gonadosomatic index (GSI%), hepatosomatic index (HIS%), spawning index (DI%), absolute frequency (AF), red blood cells ($10^6 \mu\text{l}$), glucose (mg dL^{-1}), hematocrit (%) and protein (mg dL^{-1}). The obtained results underwent variance analysis and the average values were compared via T test through SAS[®], at a statistical significance level of 5% ($p < 0.05$). No statistical differences were observed at 32 and 40% crude protein level for all evaluated parameters ($p > 0.05$). In relation to data collect period (14 and 28 days), statistical differences were verified for the celomic cavity length in centimeters (M1), hematocrit percentage (%), protein concentrations (mg dL^{-1}) ($p < 0.05$). The currently used treatments were not efficient for tilapia female reproduction synchrony under the employed conditions.

Key-words: gonadal maturation, hematologic parameters, absolute and relative fecundity.

4. INTRODUÇÃO

Os processos fisiológicos envolvidos na reprodução de peixes incluem a diferenciação das gônadas, gametogênese, liberação de gametas, fertilização e eclosão dos ovos. Todos estes eventos da cascata reprodutiva são controlados por inúmeros fatores endócrinos ao longo do eixo Hipotálamo- Hipófise-Gônadas. Esses eventos também interagem com outras funções fisiológicas, como crescimento e nutrição (IZQUIERDO; COL., 2001; SILVA RIBEIRO, 2012).

Os estudos têm enfatizado a importância da nutrição de reprodutores para melhorar o desenvolvimento produtivo das espécies cultivadas (COWARD; BROMAGE, 2000). A formulação das dietas artificiais adequadas, durante o período de pré-desova, tem grande impacto na qualidade dos ovos e larvas. Com isso, o conhecimento da exigência nutricional dos peixes é um dos pontos mais importantes, para a formulação de dietas equilibradas e de baixo custo, além de diminuir a excreção de nitrogênio na água (BOBE; LABBÉ, 2010). Assim, neste processo, a condição nutricional é o pré-requisito para reprodutores em tanques. O alimento ofertado e a frequência de alimentação devem estar baseados em dietas completas, ricas em ácidos graxos e com boa atratividade que permitem melhor desempenho reprodutivo dos peixes.

As amplas variações de idade, na primeira maturidade, a fecundidade e a frequência de desova entre espécies indicam que há muito espaço para o desenvolvimento de Melhoramento genético de tilápias.

Neste sentido, a produção simultânea de um número grande de famílias de Tilápia continua a ser um desafio para espécies com comportamentos assíncronicos de desova. Outra limitação não menos importante cinge no conhecimento sobre as tecnologias de reprodução e a sincronização da desova que possam permitir uma produção previsível de alevinos de qualidade que podem melhorar o cultivo de tilápias (LITTLE; HULATA, 2000). Nesta espécie, as fêmeas geralmente não atingem a maturidade sexual ou desovam ao mesmo tempo (THANH et al., 2010), pois a maturação precoce e a reprodução descontrolada levam ao superpovoamento dos tanques, implicando competição por espaço e alimento, ocasionando baixo crescimento, aumentando o número de peixes não comercializáveis e a heterogeneidade no tamanho, dificultando uma criação mais racional e produtiva.

A adoção de um protocolo de sincronização, por meio da nutrição, pode apresentar uma vantagem na obtenção de um número maior de fêmeas na fase de maturação e que pode desovar ao mesmo tempo e ter maior uniformidade de tamanho nos alevinos. A sincronização, também, pode influenciar na redução de endogamia em populações de seleção fechada, controlando os

efeitos de genótipo por interações entre o ambiente, produção simultânea de um grande número de famílias para as espécies com comportamento de desova assíncrona.

No presente trabalho objetivou-se avaliar parâmetros reprodutivos para sincronização em Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas com diferentes níveis nutricionais.

5. MATERIAL E MÉTODO

A realização do presente estudo foi aprovada pela Comissão de Ética ao Uso de Animais - CEUA/UFLA, sob Protocolo N° 057/2018.

5.1 Caracterização do local

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição da Estação de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, localizado no município de Lavras/MG, Brasil (21° 14' 43" S; 44° 59' 59" W e 919 m).

Foram utilizadas 320 fêmeas de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis oniloticus*) com o peso médio de $229,19 \pm 55,91$ g, obtidos no plantel de animais do setor de piscicultura da UFLA.

5.2 Seleção dos reprodutores

A seleção foi feita por uma pré-estrusão, por meio da massagem da papila urogenital, para observação da qualidade e da quantidade de ovócitos e a sua facilidade da extrusão (facilitada e forçada). Após a extrusão, os ovócitos foram considerados maduros, em formação em reabsorção.

Os peixes foram retirados nos tanques de manejo, utilizando um puçá e colocados num balde para serem transportados até a sala onde foram feitas as biometrias. Cada animal foi retirado do balde individualmente envolvido por um pano úmido até a bancada onde foi microchipado. Após esse processo, foram realizadas as biometrias, no início e no final de cada intervalo de coleta, tais como: pesagem em uma balança digital; comprimentos padrão (CP) e total (CT) usando um ictiômetro de 0,1 cm de precisão e, com um paquímetro, foram colhidas as medidas das larguras da cavidade celômica denominadas de M1, M2 e M3. Estas medidas foram feitas na posição das nadadeiras peitorais (M1), entre as nadadeiras peitorais e papila urogenital (M2) e próximas à papila urogenital (M3) para o controle do desenvolvimento da gônada.

Depois das análises morfométricas iniciais, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 16 caixas de polietileno azul, com capacidade individual para 500 L de água, com a temperatura da água mantida constantemente a 27 °C por um aquecedor e fotoperíodo de 12:12 horas controlado por um timer.

5.3 Dieta experimental

A base da alimentação consistiu de uma ração comercial extrusada doada pela empresa Aqua Cultura Supra, com dois teores diferentes de proteína bruta (PB) de 32 e 40% de mesma granulometria (5 mm). Na Tabela 1 encontra-se a composição de cada uma das rações experimentais usadas neste estudo.

Tabela 1 Composição das duas rações experimentais utilizadas como fonte nutricional

Composição Básica dos Ingredientes (%)	Níveis de proteína (%)	
	32	40
Umidade (máx)	120g/kg	120g/kg
Proteína Bruta (min)	320g/kg	400g/kg
Extrato Etéreo (min)	70g/kg	80g/kg
Matéria Fibrosa (máx)	40g/kg	30g/kg
Matéria Mineral (máx)	130g/kg	130g/kg
Cálcio (min)	10g/kg	15g/kg
Cálcio (máx)	25g/kg	30g/kg
Fósforo (min)	10g/kg	10g/kg
Energia Digestível (min)	3200 kcal/kg	3400kcal/kg
Vitamina A (min)	10000UI/kg	16000UI/kg
Vitamina C (min)	300mg/kg	350mg/kg
Vitamina D3 (min)	2500UI/kg	4000UI/kg
Vitamina E (min)	80UI/kg	128UI/kg
Vitamina k3 (min)	5mg/kg	8mg/kg
Vitamina B1 (min)	10mg/kg	16mg/kg
Vitamina B2 (min)	12,5mg/kg	20mg/kg
Vitamina B6 (min)	8,5mg/kg	13,5mg/kg
Vitamina B12 (min)	70mcg/kg	105mg/kg
Ácido Fólico (min)	4mg/kg	7mg/kg
Ácido pantotênico (min)	50mg/kg	80mg/kg
Biotina (min)	0,4mg/kg	0,7mg/kg
Colina (min)	2400mg/kg	1080mg/kg
Niacina (min)	80mg/kg	128mg/kg
Cobre (min)	6mg/kg	6mg/kg
Ferro (min)	50mg/kg	50mg/kg
Iodo (min)	1,3mg/kg	1,3mg/kg
Manganês (min)	15mg/kg	15mg/kg
Selênio (min)	0,3mg/kg	0,3mg/kg
Zinco (min)	100mg/kg	100mg/kg
Inositol (min)	180mg/kg	100mg/kg

* composição de ração do fabricante

5.4 Delineamento experimental

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2×2 , totalizando 4 tratamentos com 8 repetições por tratamento e uma densidade de 20 animais por caixa. Os tratamentos foram constituídos por dois tipos de ração comerciais (32 e 40% PB) e 2 intervalos de avaliação (14 e 28 dias). Os intervalos de coleta foram agrupados, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 Número de animais por grupo experimental

Animais	Número	Níveis de proteína (%)	de Tempo experimental
Fêmeas	80	32	14
	80	40	14
	80	32	28
	80	40	28

5.5 Parâmetro físico-químico da água

As análises dos parâmetros físico-químicos da água foram monitoradas diariamente. Foram avaliados a temperatura, o oxigênio e o pH. A temperatura e oxigênio da água foram obtidas com auxílio do oxímetro digital da marca YSI Pro20 (Dissolved Oxygen Instrument); o pH foi determinado com auxílio de potenciômetro digital de bancada (Tecnopon, modelo mPA-210) calibrado previamente com solução-tampão de pH 4,0 e 7,0.

5.6 Manejo alimentar

Os animais foram aclimatados às condições laboratoriais por 10 dias e alimentados com ração normal antes do início do experimento. Após esse período, a alimentação foi fornecida duas vezes ao dia (às 8:00 h e às 14:00 h). Os peixes foram alimentados *ad libitum* até mostrarem saciedade com as rações de 32 e 40% PB. Para a manutenção da qualidade de água, as caixas foram sifonadas para retirada de matéria orgânica em excesso, como fezes e eventuais sobras de ração. Este procedimento foi realizado diariamente.

5.7 Coleta dos ovócitos

Para a coleta de ovócitos, as papilas urogenitais foram higienizadas, para se evitar a contaminação por fezes, urina, água ou sangue; esta higienização foi feita com papel toalha seco. Na sequência ao processo, foram realizadas massagens manuais delicadas na cavidade celomática no sentido crânio caudal e procedeu-se à coleta dos ovócitos em recipientes secos.

Após a coleta das amostras de ovócitos, foram pesadas, utilizando uma balança digital com precisão de 0,001g e foi retirado 1g de ovócitos para determinação do número de ovócitos/grama.

A posição da vesícula germinativa foi verificada, a partir de uma amostra de 10 ovócitos de cada fêmea, fixadas em solução de etanol-formol e ácido sulfúrico (60:39:1), para a avaliação da migração da vesícula germinativa, a qual permitiu a visualização da posição do núcleo. O exame foi realizado, após 30 minutos de fixação nesta solução, com auxílio de microscópio óptico (ÁVILA et al., 2005). As análises da posição da vesícula germinativa foram descritas como central, periférica e não identificada (MURGAS et al., 2003).

Para a análise do diâmetro, uma amostra de 10 ovócitos por cada fêmea foi fixada em uma solução de Gilson (5 mL de álcool 60%, 44 mL de água destilada, 0,7 g de ácido nítrico 80%, 1 g de cloreto de mercúrio e 0,9 mL de ácido acético glacial (SOUZA, et al., 2016). Os ovócitos foram medidos (mm) com auxílio de ocular micrométrica (10x), sob microscópio óptico (40x).

5.8 Taxa de fecundidade absoluta e relativa por lote

A taxa de fecundidade absoluta e relativa foi estimada a partir da verificação da quantidade de ovócitos/g de peixe. Para tal, foram determinados com o auxílio das seguintes formulas 1, 2, 3 e 4.

$$(1) ID = \frac{PD}{PF} * 100;$$

$$(2) FA = PD * N. Ovócito em 1 g;$$

$$(3) FARP = \frac{FA}{PT} \quad e$$

$$(4) FARC = \frac{FA}{CT}$$

em que:

ID = índice de desova,

PD = Peso da desova e

PF = Peso da fêmea subtraindo o PD,

FA = fecundidade absoluta,

N. Ovócito = número de ovócitos em 1 g (isto resulta no número total de ovócitos produzidos por peixe),

FARP = fecundidade absoluta relativa para peso,

PT = Peso total do animal,

FARC = fecundidade absoluta relativa para comprimento (equivale ao número de ovócitos por centímetro do animal) e

CT = Comprimento total do animal.

5.9 Coleta e análise de sangue

Ao final de cada período experimental (14 e 28 dias), os animais foram mantidos 24 horas de jejum, antes do início dos procedimentos, como as biometrias previamente descritas. Uma amostra de 10 fêmeas foi retirada aleatoriamente das caixas de alojamento, com ajuda de puçá colocada individualmente em um balde; posteriormente, cada peixe foi retirado da água por menor tempo possível, para uma bancada envolvida por um pano umedecido, para evitar estresse ao animal. E os restantes peixes foram extrusados para a coleta de ovócitos com o objetivo de analisar o diâmetro e a posição periférica da vesícula germinativa do ovócito.

Foram rapidamente coletadas 2 mL das amostras de sangue por punção da veia caudal com seringa de 3 mL, com agulhas 25x7mm, banhada por um anticoagulante EDTA (4%) (ácido etilenodiaminotetracético). Em seguida, o sangue foi acondicionado em microtubos do tipo Eppendorffs.

Uma pequena alíquota foi utilizada para determinar o percentual de hematócrito pelo método do hemocitômetro (câmara de Neubauer) (GOLDENFARB et al., 1971). O sangue coletado foi colocado em tubos capilares e, em seguida, levado à centrífuga por 2 min a 11.000 rpm. A leitura foi realizada em escala padronizada e os valores expressos em (%). A quantificação do teor de glicose foi realizada, logo após a coleta do sangue, utilizando o kit Labtest de glicose (GLICOSE HK Linqiform).

A concentração plasmática da proteína total foi mensurada, utilizando Refratômetro Manual de Goldberg, após a leitura do hematócrito, pela quebra do tubo de micro-hematócrito logo acima da camada de leucócitos (HRUBEC; SMITH, 2010).

Para a contagem manual das hemácias, foi utilizada a câmara de Neubauer, o sangue foi diluído na proporção de 1:200 em solução salina 0,65% (NaCl) com o auxílio de uma pipeta automática (10 µL de sangue para 1990 µL de solução salina).

5.10 Índice gonadossomático e hepatossomático

Os peixes que foram usados para a coleta de sangue foram devolvidos aos baldes para serem eutanasiados, em uma imersão na água com gelo (0 a 4° C) por 10 minutos até a perda de movimentos operculares e cessar qualquer movimento, a seguir, a morte por secção medular.

Os peixes foram submetidos a uma incisão ventral ampla, para a retirada das gônadas e fígado na cavidade corporal, pesadas para o cálculo do índice gonadossomático (GSI) e hepatossomático, usando as seguintes equações 5 e 6, respectivamente.

$$(5) \quad \text{IGS} = \frac{\text{PG}}{\text{PC}} * 100 \quad \text{e} \quad (6) \quad \text{IHS} = \frac{\text{PF}}{\text{PC}} * 100$$

Sendo:

PG = peso da gônada,

PF = peso do fígado,

PC = peso corporal.

Os índices de maturação gonadal foram determinados com base nos relatos de Peña-Mendoza et al. (2011).

5.11 Análises estatísticas

Para análise estatística das variáveis quantitativas, foi feita análise de variância (ANOVA), para evidenciar diferenças entre os tratamentos realizados e, em seguida, foi feito o teste T, para mostrar as diferenças entre as médias, por intermédio do pacote estatístico SAS[®] - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2008), assumindo-se um nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

Os valores médios dos parâmetros de qualidade de água, observados neste trabalho, foram de $27,4 \pm 0,39$ °C, concentração média de oxigênio dissolvido de $5,35 \pm 0,03$ mg/L e pH $6,31 \pm 0,14$ encontram-se dentro dos limites recomendados para a reprodução de tilápias (BHUIEL, 2000).

Estatística descritiva dos parâmetros estudados em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo 32 e 40% de proteína bruta (PB) avaliadas aos 14 e 28 dias do experimento (Tabela 3).

Tabela 3 Estatística descritiva dos parâmetros da Tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo 32 e 40% PB.

Parâmetros	M	DP	CV(%)	MIN	MAX
Peso Inicial (g)	229,57	5,29	2,30	224,30	241,90
Peso Final (g)	270,64	19,86	7,33	236,10	305,50
Extrusão Facilitada (%)	86,80	16,52	19,03	33,30	100,00
Extrusão forçada (%)	13,20	16,51	125,07	0	66,70
Fêmeas Maduras (%)	38,50	9,20	23,89	25,00	53,00
M1 (cm)	2,57	0,08	3,41	2,43	2,72
M2 (cm)	1,80	0,22	12,52	1,63	2,63
M3 (cm)	1,13	0,04	3,85	1,07	1,21
Peso desova (g)	3,14	0,97	30,87	1,60	4,90
Diâmetro ovócito menor (µm)	8,80	0,49	5,64	7,60	9,50
Diâmetro ovócitos maior (µm)	7,08	0,50	7,09	5,90	7,80
Periférico (%)	40,48	5,50	123,60	36,00	58,00
IGS (%)	2,76	0,68	24,73	1,70	4,00
IHS (%)	2,31	0,77	33,48	1,60	4,70
ID	1,33	0,41	31,53	0,62	2,07
FA	574,94	203,63	35,41	276,36	1015,45
FARP	2,19	0,67	30,73	1,19	3,56
FARC	24,01	8,04	33,49	12,03	40,22
Hemácias	167,44	36,84	22,00	129,30	252,60
Glicose (mg/dL)	34,45	11,95	34,70	18,30	57,50
Hematócrito (%)	14,45	10,57	73,11	5,10	30,20
Proteína	15,78	9,19	58,23	5,30	26,70

M= média; DP= desvio-padrão; CV (%)= coeficiente de variação; MIN= mínimo; MAX= máximo; IGS= índice gonadossomático; IHS= índice hepatossomático; ID= índice de desova; FA= frequência absoluta; FARP= frequência absoluta relativa do peso; FARC= frequência absoluta relativa do comprimento.

6.1 Parâmetros morfométricos e reprodutivos de fêmeas

No presente estudo, as médias do peso inicial (PI) encontradas foram de $230,88 \pm 7,67$ a $228,65 \pm 6,61$, nos peixes alimentados com nível de 32 e 40% de PB, respectivamente. Com 32% de PB, foram encontradas médias do peso final (PF) que variaram de $255,61 \pm 7,33$ a $286,47 \pm 5,42$, aos 14 e 28 dias do experimento, respectivamente. Na mesma ordem, foram encontrados valores médios do PF para 40% de PB de $250,59 \pm 10,40$ a $289,73 \pm 9,74$. Diante destes resultados, pode-se afirmar que os níveis de 32 e 40% de PB na dieta resultaram em fêmeas maiores ao final de 28 dias de alimentação. O peso médio das fêmeas, aos 14 dias e ao final do período experimental, apresentou um comportamento crescente tanto em dieta como no período experimental. Avaliando os tempos de coleta (14 e 28 dias), foi notado um ganho de peso que aumentou com o aumento do tempo e variado de 46,67 para 118,32 g. Para gerar os resultados finais do experimento, o peso final foi usado como covariável, porém não foi significativo ($p > 0,05$).

No presente estudo, não houve diferenças significativas nos parâmetros fácil e difícil ($p > 0,05$) em relação aos níveis da proteína bruta e no tempo (Tabela 4).

Tabela 4. Média das variáveis da extrusão das fêmeas de *Oreochromis niloticus* alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de PB e submetidas a um período alimentar de 14 e 28 dias.

Fator	Variáveis		
	Extrusão Facilitada (%)	Extrusão Forçada (%)	Fêmeas Maduras (%)
Dieta			
32% PB	88,32	11,68	39,12
40% PB	85,28	14,72	37,87
Período alimentar			
14 dias	82,62	17,38	39,12
28 dias	90,97	9,03	37,87
Fonte de Variação			
Dieta	0,7600 ^{NS}	0,7605 ^{NS}	0,8251 ^{NS}
Período alimentar	0,3497 ^{NS}	0,3480 ^{NS}	0,8478 ^{NS}
Dieta * Período alimentar	0,8608 ^{NS}	0,8533 ^{NS}	0,7186 ^{NS}

*= significativo ($p < 0,05$); NS= não significativo.

Nota-se que os peixes alimentados com ração de 32% de PB apresentaram maior porcentagem de fêmeas maduras comparativamente aos peixes alimentados com níveis de proteína de 40%.

Na Tabela 5, somente ovócitos em formação na extrusão facilitada é que foram significativos ($p < 0,05$).

Tabela 5. Médias das variáveis de extrusão de fácil e difícil das fêmeas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de proteína bruta (PB).

Fator	Variáveis					
	Extrusão Facilitada (%)			Extrusão forçada (%)		
	Maduro	Em formação	Em reabsorção	Maduro	Em formação	Em reabsorção
Dieta						
32% PB	46,67	11,81	29,44	2,78	4,17	5,14
40% PB	46,74	21,94	20,49	1,39	6,81	2,64
Período alimentar						
14 dias	56,01	5,90	20,45	4,17	6,94	6,53
28 dias	37,40	27,85	29,48	0,00	4,03	1,25
Fonte de Variação						
Dieta	0,9793 ^{NS}	0,0830 ^{NS}	0,3216 ^{NS}	0,5250 ^{NS}	0,6705 ^{NS}	0,5433 ^{NS}
Período alimentar	0,2322 ^{NS}	0,0015*	0,2955 ^{NS}	0,0731 ^{NS}	0,6415 ^{NS}	0,1350 ^{NS}
Dieta * Período alimentar	0,3754 ^{NS}	0,7667 ^{NS}	0,1051 ^{NS}	0,5250 ^{NS}	0,3684 ^{NS}	0,1235 ^{NS}

*= significativo ($p < 0,05$); NS= não significativo

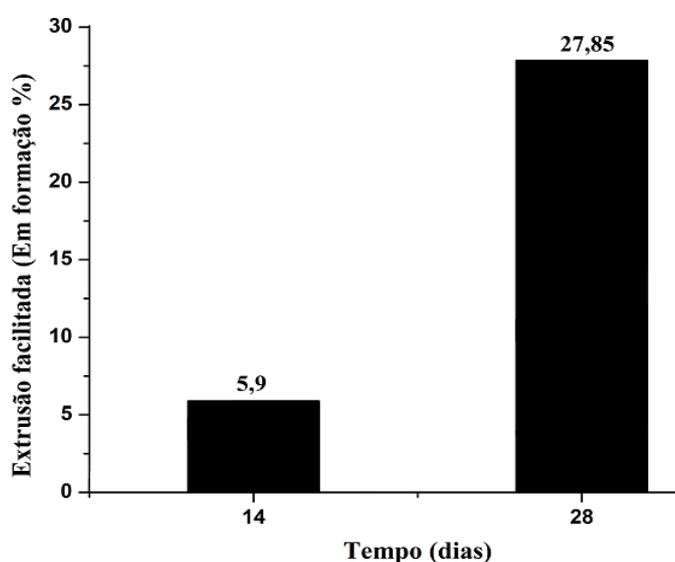


Figura 2 Valores médios da extrusão fácil no ponto em valores percentuais.

Os peixes extrusados aos 28 dias apresentaram maior porcentagem de ovócitos no ponto. A diferença dos ovócitos, aos 14 e 28 dias, foi de quase 5 vezes.

Os valores dos parâmetros reprodutivos da Tabela 6 não apresentaram efeitos significativos ($p>0,05$), nos níveis de proteína bruta.

Tabela 6 Parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentados com dois níveis de proteína bruta durante o período experimental (n=320).

Fator	Variáveis			
	Peso desova (g)	D < (mm)	D > (mm)	Periférico (%)
Dieta				
32% PB	3,19	7,16	8,87	45,8
40% PB	3,28	7,12	8,79	44,8
Período alimentar				
14 dias	3,16	7,40	9,01	45,8
28 dias	3,31	6,86	8,64	44,4
Fonte de Variação				
Dieta	0,7193 ^{NS}	0,5714 ^{NS}	0,4857 ^{NS}	0,4538 ^{NS}
Período alimentar	0,7109 ^{NS}	0,8700 ^{NS}	0,9549 ^{NS}	0,6751 ^{NS}
Dieta * Período alimentar	0,7328 ^{NS}	0,7194 ^{NS}	0,5911 ^{NS}	0,33344 ^{NS}

*= significativo ($p<0,05$); NS= não significativo; D < =diâmetro menor de ovócitos; D > =diâmetro maior de ovócitos (teste t de comparação de duas médias, $p<0,05$).

Após 28 dias do experimento, o peso da desova, o diâmetro menor e maior de ovócitos das matrizes de tilápia alimentados com diferentes níveis de proteína não apresentaram diferenças nos resultados ($p>0,05$), na dieta e no tempo de avaliação. Mesmo assim, o peso da desova teve os seus maiores valores nos peixes alimentados com dieta de 40% de PB. Para o diâmetro menor e maior, foram encontrados valores maiores que os peixes alimentados com 32% de PB. Em relação ao tempo, foram encontradas maiores médias de diâmetro maior e menor aos 14 dias.

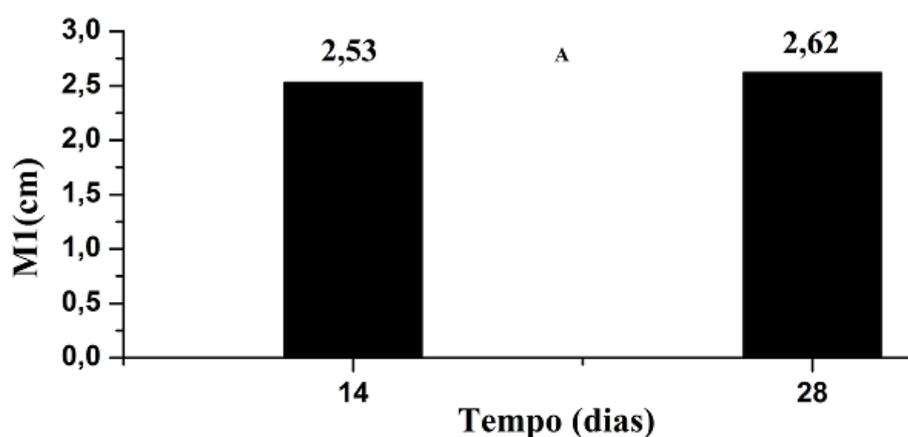
Ao analisar os valores da porcentagem da posição periférica dos ovócitos, observou-se que eles não apresentaram diferenças significativas na dieta oferecida e também ao tempo de coleta ($p>0,05$).

As médias morfológicas de M2 e M3 não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Porém os valores médios de M1 foram significativos em relação ao período das avaliações e na interação entre a dieta e o período ($p < 0,05$), como mostra a Tabela 7 e figura 3.

Tabela 7 Valores médios da cavidade celômica M1, M2 e M3 das fêmeas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período reprodutivo (n=320).

Fator	Variáveis		
	M1 (cm)	M2 (cm)	M3 (cm)
Dieta			
32% PB	2,59	1,82	1,13
40% PB	2,55	1,79	1,14
Período alimentar			
14 dias	2,53	1,87	1,13
28 dias	2,62	1,74	1,14
Dieta * Período alimentar			
32% PB / 14 dias	2,59	1,96	1,14
32% PB / 28 dias	2,60	1,69	1,12
40% PB / 14 dias	2,46	1,78	1,11
40% PB / 28 dias	2,64	1,79	1,16
Fonte de Variação			
Dieta	0,2074 ^{NS}	0,6970 ^{NS}	0,8142 ^{NS}
Período alimentar	0,0185 [*]	0,2434 ^{NS}	0,4922 ^{NS}
Dieta * Período alimentar	0,0374 [*]	0,2390 ^{NS}	0,2455 ^{NS}

*= significativo ($p < 0,05$); NS= não significativo; M1- medida na posição das nadadeiras peitorais, M2- medida entre as nadadeiras peitorais e papila urogenital, M3- medida próxima à papila urogenital (teste t de comparação de duas médias, $p < 0,05$).



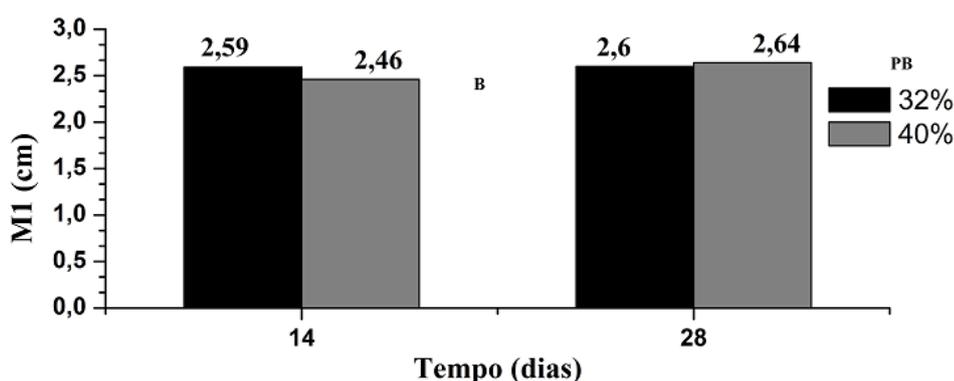


Figura 3 Valores das medidas da posição das nadadeiras peitorais (M1) de fêmeas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes tempos de avaliação (A) e na interação entre a dieta e o tempo de avaliação (B).

Os valores médios de M1 aumentaram com o aumento dos dias independentemente da dieta (A). Na interação, foram verificados maiores valores médios de 2,64% na dieta com 40% PB, aos 28 dias, enquanto os menores valores foram verificados, aos 14 dias, na mesma dieta.

Foram apresentadas na Tabela 8 variáveis do índice reprodutivo de fêmeas de tilápia alimentadas com dieta de 32 e 40% de PB. Nesta tabela, todos os parâmetros avaliados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Tabela 8. Variáveis de índices reprodutivos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) fêmeas alimentadas com dietas contendo 32% e 40% de proteína bruta (PB) e (n = 160 para IGS e IHS; n = 320 para ID, FA, FARP e FARC).

Fator	Variáveis					
	IGS (%)	IHS (%)	ID (%)	FA	FARP	FARC
Dieta						
32% PB	2,37	1,98	1,26	538,22	2,09	22,56
40% PB	3,20	2,48	1,40	611,67	2,29	25,47
Período alimentar						
14 dias	3,04	2,03	1,46	497,88	2,03	21,31
28 dias	2,52	2,68	1,21	652,01	2,36	26,72
Fonte de Variação						
Dieta	0,923 ^{NS}	0,932 ^{NS}	0,541 ^{NS}	0,476 ^{NS}	0,573 ^{NS}	0,483 ^{NS}
Período alimentar	0,974 ^{NS}	0,977 ^{NS}	0,270 ^{NS}	0,148 ^{NS}	0,365 ^{NS}	0,202 ^{NS}
Dieta * Período alimentar	0,630 ^{NS}	0,630 ^{NS}	0,746 ^{NS}	0,417 ^{NS}	0,489 ^{NS}	0,418 ^{NS}

IGS= índice gonadossomático; IHS= índice hepatossomático; ID= índice de desova; FA= frequência absoluta; FARP= frequência absoluta relativa para peso; FARC= frequência absoluta relativa para comprimento; *= significativo ($p < 0,05$); NS= não significativo.

Os IGS e IHS foram inversos no tempo de avaliação. Pós o IGS apresentou maiores valores aos 14 dias e menores valores aos 28 dias, enquanto o IHS teve maiores valores aos 28 dias e menores valores aos 14 dias.

A fecundidade absoluta não foi influenciada pela dieta nem com o tempo de avaliação ($P < 0,05$). Neste caso, na FA foram encontrados valores maiores da fecundidade aos 28 dias (652,01) e menores valores aos 14 dias (497,88).

6.2 Parâmetros sanguíneos

A concentração das hemácias e da glicose não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as matrizes alimentadas com diferentes níveis de proteína (Tabela 9). Também como não foram encontradas diferenças significativas nos valores das médias em relação ao tempo de avaliação ($p > 0,05$).

Tabela 9 Valores médios dos parâmetros hematológicos de matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de PB durante o experimento.

Fator	Variáveis			
	Hemácias ($10^6 \mu\text{l}$)	Glicose (mg dL^{-1})	Hematócrito (%)	Proteína (mg dL^{-1})
Dieta				
32% PB	162,30	32,16	15,29	16,26
40% PB	171,37	37,79	13,62	15,60
Período alimentar				
14 dias	179,29	38,73	23,49	7,99
28 dias	155,64	30,93	5,56	23,69
Dieta	0,7935 ^{NS}	0,4112 ^{NS}	0,4826 ^{NS}	0,7560 ^{NS}
Período alimentar	0,2546 ^{NS}	0,2360 ^{NS}	<0,0001*	<0,0001*
Dieta * Período alimentar	0,8217 ^{NS}	0,8777 ^{NS}	0,5263 ^{NS}	0,1406 ^{NS}

*= significativo ($p < 0,05$); NS= não significativo; (teste t de comparação de duas médias, $p < 0,05$).

Os resultados obtidos, na contagem das hemácias e da glicose, nas dietas aplicadas neste experimento, variaram de 162,30 a 171,37* $10^6 \mu\text{l}$ para hemácias e de 32,16 a 37,79 mg dL^{-1} para glicose. No tempo de avaliação, observou-se que as hemácias e glicose foram progressivamente menores durante todo o tempo experimental.

Os valores médios da quantificação de hematócritos e proteína (Tabela 9 e Figuras 4 e 5) nas fêmeas demonstraram que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do período reprodutivo.

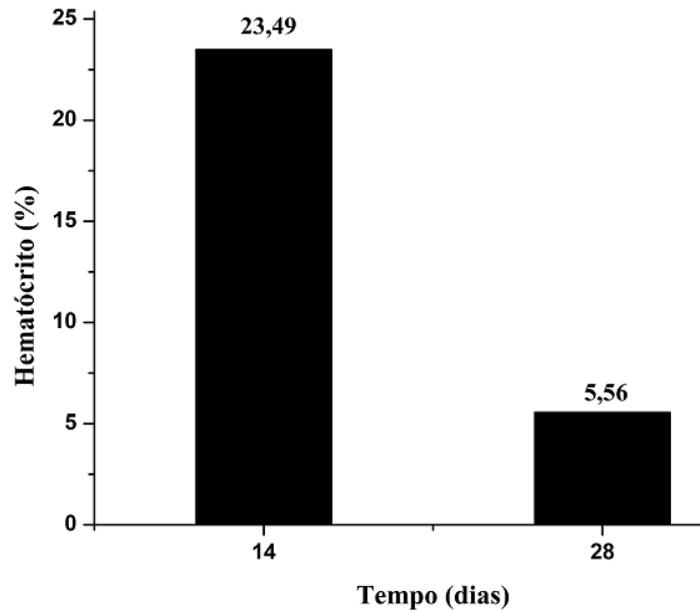


Figura 4 Médias percentuais de hematócritos para os dois tempos de avaliação em tilápia-de-Nilo *O. niloticus*

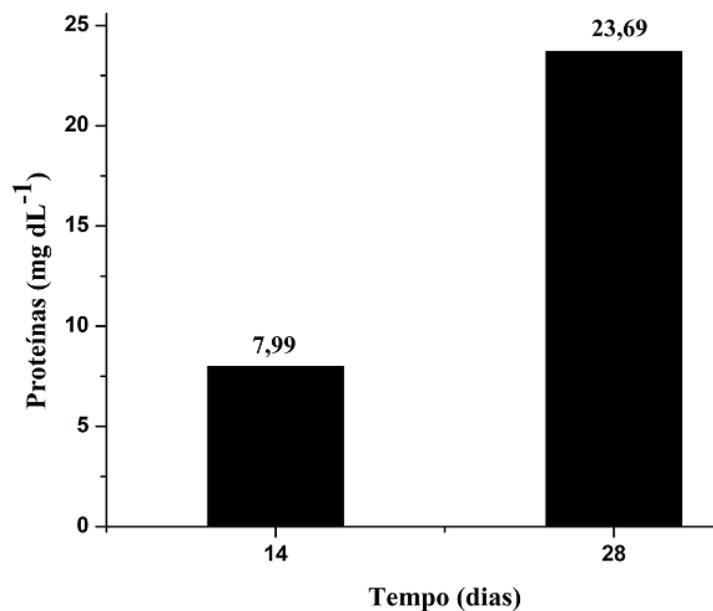


Figura 5 Médias de proteínas plasmáticas para os dois tempos de avaliação em tilápia-de-Nilo.

Nas concentrações de hematócritos, pode ser observado que, ao longo do período experimental, ocorreu uma diminuição percentual dos 14 para 28 dias. Os valores médios de proteínas plasmáticas aumentaram os valores dos 14 aos 28 dias. Entretanto a concentração de hematócrito e da proteína não foi influenciada pela dieta de 32 e 40% de PB ($p > 0,05$).

7. DISCUSSÃO

A necessidade de produção de alimentos, em larga escala e a ativação da reprodução, por meio de métodos nutricionais, são uma alternativa ética “limpa e verde”, que proporciona alternativas de manejo reprodutivo em sistemas comerciais sem dependência de hormônios exógenos (SCARAMUZZI et al., 2006). A sincronização pode influenciar a reprodução nos peixes, por um ajuste na oferta do alimento antes e durante o período reprodutivo. A presença da proteína em níveis balanceados nas rações é vital para o desenvolvimento dos animais e pode ser avaliada pela maturação gonadal da tilápia-do-Nilo. O estado nutricional dos animais é determinante para manter uma adequada função reprodutiva e pode ser modificado por diferentes níveis nutricionais, pois a constituição da dieta atua em vários níveis no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, controlando a atividade ovariana. Izquierdo et al. (2001) relatam que um fator determinante não genético associado à época e estratégia reprodutiva (desova total ou parcial) e o processo maturacional são atribuídos ao alimento estocado na fêmea-mãe antes da ovulação, proporcionando aos descendentes, fonte de energia responsável pelo desenvolvimento da prole.

No presente estudo, os níveis de 32 e 40% de PB na dieta resultaram em fêmeas maiores ao final de 28 dias de alimentação. Foi notado um ganho de peso que aumentou com o aumento do tempo experimental. Esses resultados podem ocorrer, porque a maior parte do ganho de peso está relacionada com a deposição de proteínas, e o acréscimo de proteínas é um balanço entre o anabolismo proteico e o catabolismo. Valores semelhantes do ganho de peso de 57,25 g foram encontrados por Neto et al. (2015) que estudaram reprodução e proporção sexual de tilápia vermelha, variedade *Saint peter*, em diferentes salinidades durante 28 dias de experimento. Outros autores demonstraram que o desempenho reprodutivo e zootécnico não é influenciado pelos níveis energéticos das rações, o que pode estar relacionado ao curto período de tempo de alimentação com as dietas experimentais. Neste estudo, os reprodutores machos e fêmeas foram alimentados com rações contendo por quilograma 35% de proteína bruta e 2.700, 2.950, 3.200, 3.450 ou 3.700 kcal de energia digestível, e os animais foram mantidos em hapas por 93 dias (BOMBARDELLI et al., 2009).

As fêmeas que mostraram a facilidade na liberação dos gametas tinham atingido a fase madura, pois os processos de liberação de gametas, em peixes-macho e em peixes- fêmea, são controlados por uma série de hormônios que atuam diretamente no hipotálamo e na hipófise e induzem as gônadas à maturação final e à extrusão dos gametas. Segundo Orfão et al. (2013), fatores ambientais estimulam o hipotálamo a secretar hormônio liberador de gonadotrofina, o

qual estimula a hipófise a secretar hormônios gonadotróficos que atuam nas gônadas, de modo a secretarem os hormônios sexuais e, assim, provocarem a maturação final e a liberação dos gametas. Peixes que ainda não estão maduros ou que estão fora do seu período de reprodução não podem responder ao estímulo da indução da espermição ou desova, uma vez que ainda não apresentam os gametas prontos para a desova ou esses gametas já estão em processo de regressão.

Para obtenção de proles de qualidade, a utilização de qualquer técnica para extrusão deve estar associada às condições climáticas e fisiológicas. Romagosa et al. (1990) sugerem a utilização de métodos que permitam visualizar a qualidade dos ovócitos, para verificar o seu diâmetro e a posição da vesícula germinativa.

O diâmetro de ovócitos dos peixes mostrou uma diminuição ao longo do tempo. Esta diminuição no diâmetro dos ovócitos, provavelmente, pode ter sido influenciada por vários fatores ambientais ou genéticos que não foram controlados. Além disso, também, pode ter sido influenciada por momento de desova (início, meio ou final da estação reprodutiva), tamanho (peso ou comprimento), idade da mãe, tipo de desova (natural, ou espontânea; artificial, induzida ou não), podendo ocasionar alterações fisiológicas nos peixes.

O tamanho dos ovócitos, geralmente, é calculado com base no seu diâmetro, medido o eixo único horizontal (comprimento) e vertical (largura). Este parâmetro é recomendado como indicador da qualidade dos ovócitos e fornece, também, uma estimativa do investimento parental da prole (ROMAGOSA et al., 2012). Contrariamente aos resultados deste trabalho, Romagosa et al. (2012) encontraram aumento no diâmetro e concluíram que ele pode influenciar na sobrevivência das larvas. O maior diâmetro pode ser um indicador de maior quantidade de reservas energéticas variado entre as espécies. Estes autores estudaram a nutrição e alimentação dos reprodutores das espécies de interesse para aquicultura brasileira. Felizardo et al. (2012) relataram que o diâmetro dos ovócitos é de suma importância, para a obtenção de boa taxa de fertilização, sua avaliação pode prever as condições do estágio reprodutivo do peixe.

Neste trabalho, foram encontrados valores maiores de diâmetro nos peixes alimentados com nível de 32% de PB. Os resultados do diâmetro maior encontrados podem resultar em um fator positivo na reprodução, visto que maior diâmetro de ovócitos está relacionado com acúmulo da reserva de energia que caracteriza a vitelogênese. Esses valores são superiores e corroboram aos resultados encontrados por Coward; Bromage, 2000) que relataram que o nível proteico da dieta pode influenciar na qualidade dos gametas produzidos pela tilápia fêmea; os maiores diâmetros de ovócitos (2,78 mm) e ovócito (2,30 mm) foram observados em fêmeas

que receberam dietas com, aproximadamente, 38 e 37% de proteína, respectivamente. Os níveis de proteína acima desses valores não alteraram o diâmetro dos ovócitos, provavelmente, porque atingiram o diâmetro máximo para essa espécie de desova fracionada.

Vários trabalhos mostraram que o ciclo reprodutivo em fêmeas tem início, a partir da proliferação mitótica das oogônias, que entram em meiose dando origem aos oócitos, que estacionam na fase de diplóteno (tardio) da primeira divisão meiótica, seguido, posteriormente, pelo desenvolvimento oocitário por meio do sequestro de vitelogenina e proteínas coriogênicas sintetizadas no fígado, que são incorporadas por micropinocitose, promovendo o aumento do diâmetro dos oócitos (YARON; LEVAVISIVAN, 2011; DE SOUZA, 2016). Completada a vitelogênese, com a formação dos oócitos pós-vitelogênicos, tem início a fase de maturação (YARON; LEVAVISIVAN, 2011).

A posição periférica da vesícula germinativa (PPVG) é um indicador do grau de desenvolvimento gonadal, tendo em vista que os ovócitos com PPVG são considerados maduros (NARAHARA et al., 2002). Este parâmetro pode nos indicar a qualidade do ovócito e o número de fêmeas na fase de maturação. Os resultados encontrados neste trabalho mostraram que as fêmeas não atingiram, ao mesmo tempo, a fase de maturação. Isto pode ter acontecido, provavelmente, pela entrada dos peixes no experimento em diferentes fases de maturação. Esta pode ter sido a razão de somente 45,8% de peixes ter apresentado ovócitos com PPVG, aos 14 dias e 44,4% de fêmeas ter mostrado ovócitos na posição periférica aos 28 dias do experimento. Estes resultados foram superiores comparados com resultados de Shibatta et al. (2011), ao notarem que no núcleo dos óvulos de *S. lima*, na primeira dosagem da indução hormonal, ocorreram 79,2% de núcleos centrais, 17,5% em migração e 2,5% em posição periférica. Na segunda dosagem, parece ter havido uma aceleração na velocidade migratória dos núcleos de *S. lima*, com cerca de 4,2% centrais, 65,8% em migração e 30,0% periféricos.

Os parâmetros M1, M2 e M3 mostram abaulamento celômico em peixes o qual pode ser um bom indicativo do crescimento da gônada. Assim, foi notado um aumento do M1 e uma diminuição do M2 e M3 nas fêmeas alimentados com a dieta de 32% de PB, demonstrando que a gônada reduz seu tamanho de maneira igual até os 28 dias. Um comportamento diferente foi observado para matrizes alimentadas com 40% de PB. Tanto os valores médios de M1, M2 e M3 das fêmeas mostraram um aumento até o final do experimento, evidenciando, também, que a gônada aumentava seu tamanho de maneira equivalente. Os valores encontrados neste trabalho corroboram com os resultados de Andrade, (2015) que encontrou uma correlação positiva nas médias de M1 e M2. McMillan (2007), que estudou a histologia dos peixes reprodutivos, relatou que os folículos vão incorporando vitelogenina e aumentando de tamanho,

vão sendo deslocados no interior da gônada. Sendo assim, é provável que o desenvolvimento gonadal comece pela região cranial, o que representa para este trabalho a média de M1.

A avaliação do desenvolvimento gonadal é um trabalho fundamental na pesquisa da reprodução (MALDONADO-AMPARO et al., 2017). Vários autores têm utilizado o índice gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) em estudos relacionados à biologia reprodutiva (GONÇALVES et al., 2015; HISMAYASARI et., 2015). O IGS varia de acordo com as espécies, tipo de desova, época do ano. Ele é influenciado pela capacidade fisiológica e condições ambientais. Apesar do IGS e IHS não terem apresentado diferenças significativas, esses valores mostraram fisiologicamente o desenvolvimento da gônada na fase reprodutiva. E estes parâmetros (IGS e IHS) são usados, frequentemente, para avaliar os efeitos da nutrição na reprodução. Conforme descrito por Navarro et al. (2009), o IGS expressa o percentual de massa da gônada (testículo ou ovário), em relação ao peso corporal, sendo um importante parâmetro de avaliação de atividade reprodutiva, associado à maturidade e fecundidade dos indivíduos. Desta forma, quanto maior o peso das gônadas maior é a produção de gametas.

Os maiores valores do IGS encontrados, aos 14 dias do experimento, podem ser atribuídos ao estágio de maturação mais avançado. E os menores verificados aos 28 dias foram relacionados às fases como regressão, regeneração e imatura. Segundo Felizardo et al. (2012), que estudaram efeito do tempo de indução hormonal na atividade reprodutiva em lambari (*Astyanax bimaculatus*), menores valores do IGS indicam a ausência da síntese de esteroide, o qual é o principal fator que causa o aumento da deposição de vitelogenina no oócito e, conseqüentemente, determinação do peso dos ovários durante o desenvolvimento reprodutivo.

Explicação semelhante pode ser dada no IHS, em que os valores menores podem refletir a maturação avançada (aos 14 dias), enquanto os valores maiores verificados refletem a maturação inicial (aos 28 dias). Estes valores foram semelhantes aos resultados observados por Hismayasari et al. (2015) que verificaram IGS e IHS, na desova de Rainbowfis *Melanotaenia boesemani*, valores máximos de $2,16 \pm 0,18$ e $2,28 \pm 0,30$, respectivamente. Valores maiores para IGS e menores para IHS foram verificados no artigo de Sarmiento et al. (2018) que estudaram a eficiência reprodutiva e qualidade de ovos e larvas de tilápia-de-Nilo alimentadas de diferentes níveis de vitamina C.

O IGS está ligado à liberação dos ovócitos, pois o amadurecimento das gônadas das fêmeas é ligeiramente posterior aos dos machos, possivelmente, pelo fato de elas necessitarem de maior acúmulo energético, pois armazenam uma quantidade considerável de vitelo, diferente dos machos. As médias de IHS têm valores antagônicos às do IGS, em período reprodutivo em cujo período, as gônadas são maiores e o fígado menor. Considerando-se o peso e o

comprimento do animal, isso, provavelmente, está relacionado à canalização de reservas hepáticas para vitelogênese (GOLZIO, 2014). Assim, esses parâmetros estão relacionados com atividade reprodutiva e podem ser utilizados como indicadores do período da desova, que é determinado pela maturação dos ovários.

A fecundidade é um dos parâmetros mais importantes para determinar o desempenho reprodutivo dos peixes no qual se observa que pode ser afetado pelas deficiências nutricionais das dietas ofertadas em reprodutores. Os seus valores são importantes para a compreensão do estado biológico e do potencial reprodutivo de uma população (IZQUIERDO et al., 2001). Os resultados de fecundidade deste trabalho mostram maiores valores, na produção média de ovócitos, nos peixes alimentados com a dieta de 40% de PB e período de 28 dias de avaliação (Tabela 8). Para Izquierdo et al. (2001), a melhoria na nutrição e alimentação dos reprodutores melhora muito não apenas a qualidade do óvulo e do esperma, mas também a produção de proles. O desenvolvimento gonadal e a fecundidade são afetados por certos nutrientes dietéticos essenciais, especialmente, em desova contínua com períodos vitelogênicos curtos. A fecundidade reduzida, relatada em várias espécies de peixes, pode ser causada pela influência de um desequilíbrio nutricional, no sistema endócrino cérebro-hipófise-gônadas ou pela restrição na disponibilidade de um componente bioquímico para a formação de ovos.

Segundo Coward; Bromage, (1999ac), a tilápia exibe grande variabilidade na frequência de desova, mesmo sob condições ambientalmente controladas. A frequência de desova também pode ser influenciada pela interação social, particularmente, por estimulação visual, audível e química, fato esse que pode ter contribuído para a não diferença observada neste trabalho.

Por outro lado, alguns autores relatam que os níveis nutricionais impostos na dieta alteram a fecundidade das fêmeas e a qualidade de prole (NG et al., 2011). Os reprodutores de peixes têm demonstrado a necessidade de suplementação de nutrientes de alta qualidade, contribuindo nos mecanismos fisiológicos reprodutivos (maturação gonadal, fecundidade, formação de gametas, fertilização dos ovos, vitelogênese e desenvolvimento ontogenético inicial) (NAVARRRO et al., 2010).

As oscilações dos valores hematológicos são influenciadas pelas alterações da qualidade de ambiental, como as variáveis físicas e químicas da água, assim como por estresse, ciclo sazonal e fatores endógenos como o sexo, estado de maturação gonadal, estado nutricional e doenças (RENZANI-PAIVA et al., 2013). Observou-se neste estudo uma diminuição de hemácias e de glicose, porém os valores observados encontravam-se dentro do intervalo da normalidade para tilápia. Tavares-dias (2015) estudou parâmetros sanguíneos de referência para

Oreochromis niloticus de cultivo intensivo e encontrou valores mínimos e máximos de 1.500 a $3.760 \cdot 10^6 \mu\text{l}$ e 14,1 a 92,1 mg dL^{-1} para hemácias e glicose, respectivamente.

As hemácias são as células que aparecem em maior número no sangue circulante dos peixes, cuja função é o transporte de oxigênio e gás carbônico por meio da combinação da hemoglobina com O_2 formando oxihemoglobina. O tamanho e o número das hemácias revelam variações entre as espécies e dependendo das condições fisiológicas e ambientais. A função principal destas células é a troca gasosa carreando oxigênio e gás carbônico para os tecidos (SILVA et al., 2012; DIAS et al., 2009).

Os valores da glicose no soro mostraram aumento com o aumento dos níveis da dieta, o que sugere a gliconeogênese como consequência do aumento do nível de proteína na dieta. Alguns autores relataram que a glicose está relacionada com uma série de fatores que são considerados estressores, no ambiente de cultivo, entre eles, podemos citar a temperatura, o manuseio dos animais e também durante o transporte (URBINATI et. al., 2004). Por isso, esta variável foi usada como indicador para sustentar que podem não ter ocorrido maiores alterações fisiológicas, uma vez que, em situações adversas durante a reprodução, a glicose é a principal fonte de energia utilizada pelos peixes e o seu desnível pode causar estresse.

A concentração de hematócitos e de proteínas plasmáticas totais neste estudo apresentou resultados inversos no tempo de avaliação, isto é, quando os valores das proteínas plasmáticas aumentavam (de 7,99 para 23,69 g dL^{-1} , ao longo do experimento, os resultados de hematócrito diminuía quase na mesma proporção (de 23,49 para 5,56% aos 14 e 28 dias. Apesar de os níveis (32 e 40%) de proteína não terem sido significativos neste experimento, a sua utilização diminuiu com o aumento dos níveis de proteína na dieta, e os valores de proteínas plasmáticas totais estiveram acima da normalidade para os dois níveis da dieta e durante o período experimental. Segundo os dados de referência para *Oreochromis niloticus* de Tavares-dias (2015), estes parâmetros sanguíneos têm como valores mínimos e máximos de 21,0 a 44,0% e 2,3 a 3,7 g dL^{-1} para hematócitos e proteínas, respectivamente. Segundo Dawood e Koshio (2018), as proteínas do plasma são essenciais para a manutenção da homeostase em vertebrados pela realização de várias funções no corpo, tais como a formação de estruturas celulares, a catálise de reações bioquímicas e o transporte de metabólitos. Oliveira et al. (2014) mostraram que um aumento da proteína total no plasma pode estar relacionado com um aumento na circulação de vitelogenina e a sua utilização para a formação do saco vitelino.

É possível que estes níveis da dieta (32 e 40% PB) tenham fornecido proteína em excesso ao ponto de ultrapassar às exigências diárias em proteína para tilápia. No entanto verifica-se que a proteína, quando fornecida em níveis ótimos, visando ao máximo

desenvolvimento corporal dos reprodutores, garante lotes homogêneos quanto à maturação sexual. Por outro lado, níveis superiores de proteína antecipam o amadurecimento sexual e aumentam a quantidade de ovos por peso do peixe. De acordo com Sampaio et al. (2000), o consumo excessivo de proteínas pode reduzir a eficiência de utilização da proteína pelos peixes, de modo que parte desta proteína, quando não utilizada para síntese proteica, pode ser desviada para deposição na forma de energia, lipogênese ou gliconeogênese. Gunasekera et al. (1996) analisaram o efeito de diferentes níveis de proteína na puberdade e crescimento de ovócitos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Constataram que animais que se alimentaram com níveis mais altos de proteína alcançaram puberdade mais cedo e ocorreu, também, um amadurecimento de ovócitos mais rapidamente do que em animais alimentados com níveis mais baixos.

Independentemente da importância da proteína, o efeito da nutrição no processo reprodutivo dos peixes é pouco compreendido (BOBE; LABBÉ, 2010) e os resultados da pesquisa são, muitas vezes, contraditórias e difíceis de comparar, particularmente, porque variam com a idade, espécies, a origem alimentar, a reprodução, sistema de cultivo e técnicas de gestão reprodutiva (EL-SAYED; KAWANNA, 2008).

O hematócrito é a porcentagem calculada de todas as hemácias (contendo os leucócitos e as plaquetas) em que o plasma representa, aproximadamente, 50% da amostra (ZAMINHAN et al., 2017). Os valores baixos de hematócrito verificados neste trabalho podem indicar má nutrição dos peixes. Esta hipótese pode contradizer os resultados observados para a proteína. De acordo com Chagas; Val (2003) estudaram os parâmetros hematológicos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e verificaram que a redução no hematócrito caracteriza anemia em peixe. Barcellos et al. (2001) e Lupatsch et al. (2010) sugeriram que o hematócrito constitui uma boa ferramenta na avaliação de estresse em peixes. O aumento dessa variável é atribuído ao recrutamento de eritrócitos do baço e/ou aumento do tamanho dos eritrócitos. Por outro lado, pesquisas também têm demonstrado um decréscimo do hematócrito sob condições de estresse crônico. Segundo Tavares-Dias; Moraes (2004), a alteração do hematócrito mediante o estresse ocasiona hemoconcentração ou hemodiluição. A hemoconcentração pode ser pela liberação de eritrócitos pelo baço e a hemodiluição pela redução nos valores do hematócrito.

As conexões do sistema imunológico com o endócrino, condições de estresse podem levar a uma imunossupressão, que, por sua vez, pode ser refletida nos valores numéricos de leucócitos circulantes. E os resultados deste experimento foram inferiores comparados com os resultados encontrados por Tavares-Dias et al. (2002) que foram para Eritrócitos $1,95 \times 10^6 \mu\text{L}$; hemoglobina $6,73 \text{ g dL}^{-1}$ e hematócrito 26,50%.

8. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os tratamentos utilizados não foram eficientes para a sincronização da reprodução das fêmeas de tilápias nas condições empregadas.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. S. et al. Biologia reprodutiva de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, n. 1, p. 195-201, Janeiro/Março, 2015.
- ÁVILA, M. C.; ROMAGOSA, E. Efeito do choque térmico quente em ovos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*): tempo pós-fertilização e duração do processo na sobrevivência das larvas. **B. Inst. Pesca**, v. 31, p. 55-64, Julho, 2005.
- BARCELLOS, L. J. G. et al. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 2, p. 121-123, December, 2001.
- BHUJEL, R. C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. **Aquaculture**, v. 181, n. 1-2, p. 37-59, January, 2000.
- BOBE, J; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and comparative endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 535-548, February, 2010.
- BOMBARDELLI, R. A. et al. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1391-1399, Novembro, 2009.
- CHAGAS, E. C. VAL, A. L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 397-402, Março, 2003.
- COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Spawning periodicity, fecundity and egg size in *Tilapia zillii* (Gervais), a substrate-spawning cichlid. **Aquaculture**, v. 171, p. 251-267, January/February, 1999a.
- COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Influence of conspecific contact upon blood sex steroid levels and the dynamics of ovarian development in female red-bellied tilapia, *Tilapia zillii*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 9, n. 1, p. 23-34, October, 1999c.
- COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 1-25, March, 2000.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 2, p. 334-350, June, 2018.

DE SOUZA, F. M. S. **Variações sazonais dos níveis plasmáticos do esteroide sexual 17 β -estradiol (e2) em fêmeas de matrinxã (*brycon amazonicus*)**. 2016. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Faculdade de Engenharia – Unesp, Campus de Ilha Solteira, 2016.

DIAS, M. T. D. et al. **Hematologia: ferramenta para o monitoramento de estado de saúde de peixes em cultivo. Tópicos especiais em saúde e criação animal**. 1^a ed. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009.

EL-SAYED, A. M.; KAWANNA, M. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. **Aquaculture**, v. 280, n. 1-4, p. 179-184, August, 2008.

FELIZARDO, V. O. et al. Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). **Theriogenology**, v. 77, n. 8, p. 1570-1574, May, 2012.

GOLDENFARB, P. B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n. 1, p. 35-39, July, 1971.

GOLZIO, J. E. S. A. **Relação hepatossomática em função do desenvolvimento gonadal de *Sciades herzbergii* (*Siluriformes, Ariidae*) no estuário do rio Paraíba do Norte, Bayeux, Paraíba**. 2014. 38 p. Monografia (Bacharelato em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa/PB, 2014.

GONÇALVES, L. U. et al. Crude glycerin as dietary energy source for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 437, p. 230-234, February, 2015.

GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 146, n. 1-2, p. 121-134, 1996.

HISMAYASARI, I. B. et al. Gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and proportion of oocytes stadia as an indicator of rainbowfish *Melanotaenia boesemani* spawning

season. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 2, n. 5, p. 359-362, May, 2015.

HRUBEC, T. C.; SMITH, S. A. Hematology of Fishes. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds.). Schalm's Veterinary Hematology. 6.ed. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing Ltda, p. 994-1003, 2010.

IZQUIERDO, M. S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 25-42, June, 2001.

LITTLE, D. C.; HULATA, G. Strategies for tilapia seed production. In: **Tilapias: biology and exploitation**. Springer, Dordrecht, 59 p. 2000.

LUPATSCH, I.; DESHEV, R.; MAGEN, I. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 5, p. 763-769, April, 2010.

MALDONADO-AMPARO, M. D. L. A. et al. Gonadal Development of *Peprilus medius* (Peters, 1869) (Perciformes: Stromateidae) from Southeast of the Gulf of California, Mexico. **International Journal of Morphology**, v. 35, n. 1, p. 56-61, December, 2017.

MCMILLAN, D. B. **Fish histology: female reproductive systems**. Canada. Springer, Science & Business Media, 165 p. 2007.

MURGAS, L. D. S. et al. Reprodução/espécies próprias para a piscicultura. **Lavras, UFLA/FAEPE**, 28 p. 2003.

NARAHARA, M. Y. et al. Reprodução induzida da Pirapitinga-do-Sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), mantida em condições de confinamento. **R. Bras. Zootec**, v. 31, n. 3, p. 1070-1075, Janeiro, 2002.

NAVARRO, R. D. et al. A Importância da vitamina E, C e A na reprodução de peixes (Revisão de literatura). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, p. 20-25, Janeiro/Março, 2009

NAVARRO, R. D. et al. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixes. **Revista Augustus**, v. 30, n. 30, p. 108-118, Agosto, 2010.

NETO, O. P. P. et al. Reprodução e proporção sexual de tilápia vermelha, variedade Saint Peter, em diferentes salinidades. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 310-318, Abril/Junho, 2015.

NG, W. K.; WANG, Y. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, v. 314, n. 1-4, p. 122-131, April, 2011.

OLIVEIRA, M. M. et al. Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. **Animal reproduction science**, v. 150, n. 1-2, p. 62-69, November, 2014.

ORFÃO, L. H. Indução da desova e espermiacão de peixes em criações comerciais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 192-195, Abril/Junho, 2013.

PEÑA-MENDOZA, B.; GÓMEZ-MÁRQUEZ, J. L.; GARCÍA-ALBERTO, G. Ciclo reproductor e histología de las gónadas de tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae). **Ciencia Pesquera**, v. 19, n. 2, p. 23-36, November, 2011.

RENZANI-PAIVA, M. J. T. et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Editora da Universidade Estadual de Maringá-EDUEM, 2013.

ROMAGOSA, E.; DE PAIVA, P.; GODINHO, H. M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg 1895), induced to spawn. **Aquaculture**, v. 86, n. 1, p. 105-110, April, 1990.

ROMAGOSA, E.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W. R. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1ª ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 375 p. 2012.

SAMPAIO, M. A. M. B.; KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P. Relação energia: proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 213-219, Abril/Junho, 2000.

SARMENTO, N. L. et al. Reproductive efficiency and egg and larvae quality of Nile tilapia fed different levels of vitamin C. **Aquaculture**, v. 482, p. 96-102, January, 2018.

SAS INSTITUTE. Statistical Analysis Systems User's Guide. Version 9.2. Cary: SAS Institute Inc., 2008.

SCARAMUZZI R. J. et al. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. **Reprod Nutr Dev**, v.46, p.339-354, 2006.

SILVA, R. D. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. a00101s1, p. 99-107, Novembro, 2012.

SHIBATTA, O. A. et al. Reprodução em cativeiro do jurupê *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae) por meio de indução hormonal. **Semina: Ciências Agrárias**, p. 363-372, Janeiro/Março, 2011.

SOUZA, U. N. et al. Influence of application time and genetic variability in tilapias *Oreochromis niloticus* submitted to hormonal induction with hCG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 215-223, Agosto, 2016.

TAVARES-DIAS, M. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. **Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas. Pedro & João Editors, São Carlos**, p. 11-30, 2015.

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M. I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 157-62, Abril, 2004.

TAVARES-DIAS, M. et al. Características hematológicas de teleósteos brasileiros: IV. Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, p. 693-698, Setembro, 2002.

THANH, N. M. et al. Estimates of strain additive and non-additive genetic effects for growth traits in a diallel cross of three strains of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam. **Aquaculture**, v. 299, n. 1-4, p. 30-36, February, 2010.

URBINATI, E. C. et al. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. **Aquaculture**, v. 229, n. 1-4, p. 389-400, January, 2004.

YARON, Z.; LEVAVI-SIVAN, B. Endocrine regulation of fish reproduction. **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**, v. 2, p. 1500-1508, 2011.

ZAMINHAN, M. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos do surubim do Iguçu (*Steindachneridion melanoderdatum*) criados em tanques-rede. **Agrarian**, v. 10, n. 36, p. 181-188, Maio, 2017.