



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ED CHRISTIAN SUZUKI DE LIMA

**DESEMPENHO PRODUTIVO, HISTOLOGIA E EXPRESSÃO
GÊNICA MUSCULAR DE VARIEDADES DE TILÁPIA DO
NILO CULTIVADAS EM HAPAS E VIVEIROS ESCAVADOS**

ED CHRISTIAN SUZUKI DE LIMA

**DESEMPENHO PRODUTIVO, HISTOLOGIA E EXPRESSÃO
GÊNICA MUSCULAR DE VARIEDADES DE TILÁPIA DO
NILO CULTIVADAS EM HAPAS E VIVEIROS ESCAVADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Mauricio Lopera Barrero

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Oba

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

L732d Lima, Ed Christian Suzuki de.

Desempenho produtivo, histologia e expressão gênica muscular de variedades de tilápia do Nilo cultivadas em hapas e viveiros escavados / Ed Christian Suzuki de Lima. – Londrina, 2015.
92 f. : il.

Orientador: Nelson Mauricio Lopera-Barrero.

Coorientador: Alexandre Oba.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2015.
Inclui bibliografia.

1. Tilápia (Peixe) – Criação – Teses. 2. Peixe – Morfologia – Teses. 3. Peixe – Genética – Teses. 4. Peixe – Crescimento – Teses. I. Lopera-Barrero, Nelson Mauricio. II. Oba, Alexandre. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

CDU 597.583.4

ED CHRISTIAN SUZUKI DE LIMA

**DESEMPENHO PRODUTIVO, HISTOLOGIA E EXPRESSÃO GÊNICA
MUSCULAR DE VARIEDADES DE TILÁPIA DO NILO CULTIVADAS
EM HAPAS E VIVEIROS ESCAVADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Nelson Mauricio Lopera
Barrero

Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dr. Júlio Hermann Leonhardt

Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 26 de fevereiro de 2015.

Dedico...

... à todos aqueles que confiaram em mim, pois sem estas pessoas, não conseguiria e nem valeria à pena continuar tentando.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Universidade Estadual de Londrina por ter me proporcionado a graduação no curso de Zootecnia e a possibilidade de ingressar na Pós-Graduação em Ciência Animal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela possibilidade a mim concedida de alcançar o título de Mestre, e por tudo que foi disponibilizado pelo programa durante o curso todo.

Ao meu orientador, professor Dr. Nelson Maurício Lopera Barrero, não apenas por orientar os meus passos quanto à construção deste trabalho durante os dois anos, mas pelos conselhos e incentivo em relação a aspectos da vida pessoal, que me foram e são de grande valia.

Ao professor Dr. Júlio Hermann Leonhardt, pela grande ajuda em grande parte dos experimentos a campo, e pela paciência em solucionar minhas dúvidas, além de ter aceito participar da banca de defesa deste trabalho e da colaboração com correções e sugestões, de modo a auxiliar na melhoria deste.

Ao professor Dr. Alexandre Oba, por todo o auxílio e ensinamento prestados durante toda a graduação, e por ter aceitado ser meu coorientador neste trabalho.

Ao professor Dr. Ricardo Pereira Ribeiro da Universidade Estadual de Maringá, por aceitar participar da banca de qualificação e de defesa deste trabalho, além das correções e sugestões que auxiliaram no enriquecimento do mesmo.

À professora Dra. Angela Rocio Poveda Parra pelo grande auxílio prestado durante todas as coletas do experimento e também por aceitar participar da banca de qualificação deste trabalho, e também pelas valiosas sugestões e correções.

Ao professor Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira pelo auxílio com análise estatística da análise de desempenho, e pela ajuda na solução de diversas dúvidas.

Ao professor Dr. Silvano Cesar da Costa do Departamento de Estatística da UEL, pelo grande auxílio geral nas análises estatísticas, com o esclarecimento de diversas dúvidas.

À CAPES pelo auxílio financeiro permitido através da concessão de bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Virologia do Departamento de Medicina Veterinária por ceder espaço para as análises histológicas e de expressão gênica.

Ao doutorando Rodrigo Alejandro Arellano Otonel por toda ajuda nas coletas, análises histológicas e pela realização das análises de expressão gênica.

A todos os membros do grupo NEPAG pela companhia durante os dois anos de mestrado, e pelo auxílio de alguns membros em algumas das coletas.

Ao meu pai Edenil e minha mãe Alice, não apenas por todo apoio cedido durante esta fase, mas por tudo que me foi feito durante toda a minha vida, e por isso agradeço por fazerem parte dela.

Aos meus irmãos, Ariadne e Petrie, pelo convívio durante este período, e também por me acompanharem durante grande parte da minha vida, sempre me apoiando e me auxiliando nos momentos em que mais precisei.

Enfim, agradeço à todos que estiveram envolvidos neste trabalho e porventura não tenham sido citados.

Questionamento constante é a primeira chave para a sabedoria... Através do duvidar que somos levados a inquirir, e pelo inquérito nós percebemos a verdade"

(Pedro Abelardo)

LIMA, Ed Christian Suzuki de. **Desempenho produtivo, histologia e expressão gênica muscular de variedades de tilápia do Nilo cultivadas em hapas e viveiros escavados**. 2015. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

A tilápia do Nilo é uma das espécies de peixe mais cultivadas e produtivas, devido a fatores como sua adaptabilidade a diversos sistemas de cultivo e a existência de variedades genéticas superiores, das quais se destacam a GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*) e a Supreme, sendo que o desempenho destas depende de como se adaptam aos sistemas onde são cultivadas. Além disso, no cultivo da tilápia, o crescimento da musculatura branca é uma das características mais importantes, ocorrendo durante a vida por meio da hiperplasia (aumento do número de fibras) e da hipertrofia (aumento do diâmetro das fibras), com a contribuição de cada um destes processos dependendo de fatores intrínsecos e ambientais, e também do controle por fatores reguladores do crescimento, entre estes, a miostatina. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos cultivos em hapas e viveiros escavados sobre o desempenho produtivo, crescimento da musculatura branca e expressão gênica da miostatina nas variedades GIFT e Supreme. O experimento durou 204 dias, sendo dividido em quatro fases, e no final de cada uma (23, 50, 113 e 204 dias do início do experimento), foram realizadas biometrias e coletas de tecido muscular. Para análise de desempenho, em cada biometria foram utilizados 10 peixes por variedade em cada sistema de cultivo, sendo mensurados: peso, comprimento padrão, comprimento do tronco, comprimento de cabeça, altura da cabeça, altura do corpo e largura. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2x4 (duas variedades, dois sistemas de cultivo e quatro biometrias). Para análise de crescimento muscular, foram coletadas em cada fase amostras musculares de cinco peixes por variedade em cada sistema. Destas, foram feitas lâminas histológicas coradas em hematoxilina eosina das quais foram mensuradas áreas de 100 fibras por peixe com uso de um programa de análise de imagens para obtenção dos diâmetros. A expressão gênica da miostatina foi avaliada apenas nas fases de crescimento e engorda em amostras de musculatura branca, sendo verificada por meio da transcrição reversa seguida por PCR em tempo real (qRT-PCR), com resultados analisados em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 2 x 2 x 2 (dois sistemas, duas variedades e duas fases), com realização de análise de variância e teste de Tukey a 5%. No desempenho, a variedade GIFT em viveiros apresentou melhores resultados para comprimento padrão, comprimento do tronco e altura do corpo, e em hapas a Supreme apresentou maior peso e altura de cabeça em algumas fases, contudo sem importância em termos produtivos, devido aos resultados neste sistema estarem abaixo dos valores comerciais. Na análise histológica, foi evidenciada diminuição gradativa do crescimento hiperplásico e consequente aumento do crescimento hipertrófico, com maior hipertrofia no cultivo em viveiros, sendo maior para GIFT. Na análise genética, foi constatada maior expressão da miostatina para peixes cultivados em viveiros na fase de crescimento, que pode estar relacionada com a elevada hipertrofia. Tais evidências sugerem que nas condições presentes neste estudo, o cultivo em viveiros escavados proporcionou melhores resultados, sendo a variedade GIFT mais adaptada a este sistema.

Palavras-chave: Biometrias. Crescimento muscular. Efeitos ambientais. Fases do cultivo. Influência genética.

LIMA, Ed Christian Suzuki de. **Productive performance, histology and muscle gene expression of varieties of Nile tilapia reared in hapas and earthen ponds**. 2015. 92 p. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

The Nile tilapia is one of the most cultivated and productive fish species due to factors such as their adaptability to various farming systems and the existence of superior genetic varieties, including most importantly the GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) and the Supreme, and their performance depends on how they adapt to the systems where they are grown. Moreover, in tilapia farming, white muscle growth is one of the most important features, occurring during the lifetime through hyperplasia (increase in number of fibers) and hypertrophy (increase in diameter of fibers), with the contribution of each of these processes depending on intrinsic and environmental factors, and also by the control of growth regulatory factors, among them, myostatin. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of the rearing in hapas and earthen ponds on productive performance, growth of white muscle and myostatin gene expression in GIFT and Supreme varieties. The experiment lasted 204 days, being divided into four phases, and at the end of each (23, 50, 113 e 204 days after the start of the experiment), were performed biometrics and collection of muscle tissue. For performance analysis, in each biometrics were used 10 fish per variety in each rearing system, being measures: weight, standard length, trunk length, head length, head height, body height and width. The statistical design was completely randomized in a factorial 2x2x4 (two varieties, two rearing systems and four biometrics). For the muscle growth analysis, were collected at each stage muscle samples from five fish per variety in each system. From these, were made histological slides stained with hematoxylin eosin, of which 100 fibers areas were measured per fish with use of an image analysis program to obtain the diameters. The myostatin gene expression was evaluated only during the growing and fattening stages in white muscle samples, being verified by reverse transcription followed by real-time PCR (qRT-PCR), with the results analyzed in a completely randomized design in a factorial 2 x 2 x 2 (two systems, two varieties and two stages), with performing of analysis of variance and Tukey test at 5%. In performance, the GIFT variety in ponds showed better results for standard length, trunk length and body height, and in hapas the Supreme showed greater weight and head height at some stages, however unimportant in productive terms, due to the results in these system are below market values. In histological analysis was evidenced a gradual decrease of hyperplastic growth and consequent increase of the hypertrophic growth with greater hypertrophy in rearing in ponds, being higher for GIFT. In the genetic analysis, it was found higher expression of myostatin for fish grown in ponds in the growth stage, which may be related to the high hypertrophy. Such evidence suggests that in the conditions present in this study, cultivation in earthen ponds provided better results, with the GIFT variety more adapted to this system.

Key words: Biometrics. Environmental effects. Genetic influences. Muscle growth. Rearing stages.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo A – Desempenho de tilápias do Nilo de duas variedades (GIFT e Supreme) cultivadas em hapas e viveiros escavados	28
Figura 1 – Sistemas de cultivo utilizados.....	33
Figura 2 – Parâmetros morfométricos avaliados.....	34
Figura 3 – Mensuração dos peixes	35
Figura 4 – Temperatura da água nas fases em cada sistema de cultivo	37
Figura 5 – Níveis de oxigênio dissolvido nas fases em cada sistema de cultivo	37
Figura 6 – Hapas utilizadas na fase de engorda demonstrando colmatção.	37
Figura 7 – Curvas de crescimento para peso em hapas.....	39
Figura 8 – Curvas de crescimento para peso em viveiros escavados.....	39
Figura 9 – Curvas de crescimento para altura da cabeça em hapas	40
Figura 10 – Curvas de crescimento para altura da cabeça em viveiros escavados	40
Figura 11 – Curvas de crescimento para comprimento padrão.....	41
Figura 12 – Curvas de crescimento para comprimento do tronco.....	41
Figura 13 – Curvas de crescimento para comprimento de cabeça	42
Figura 14 – Curvas de crescimento para altura do corpo.....	42
Figura 15 – Curvas de crescimento para largura.....	43
Artigo B – Morfologia e expressão gênica muscular de tilápias do Nilo das variedades GIFT e Supreme criadas em dois sistemas de cultivo	53
Figura 1 – Coleta de amostras de músculo branco.....	59
Figura 2 – Temperatura da água nas fases em cada sistema de cultivo	63
Figura 3 – Níveis de oxigênio dissolvido nas fases em cada sistema de cultivo	63
Figura 4 – Distribuição das fibras musculares brancas com diferentes diâmetros.....	65

LISTA DE TABELAS

Artigo A – Desempenho de tilápias do Nilo de duas variedades (GIFT e Supreme) cultivadas em hapas e viveiros escavados	28
Tabela 1 – Médias da proporção da cabeça em relação às partes comestíveis (%).....	40
Artigo B – Morfologia e expressão gênica muscular de tilápias do Nilo das variedades GIFT e Supreme criadas em dois sistemas de cultivo.....	53
Tabela 1 – Caracterização dos genes utilizados	62
Tabela 2 – Diâmetro das fibras musculares brancas agrupadas em classes	64
Tabela 3 – Médias de expressão gênica da miostatina por fase, sistema e variedade	69
Tabela 4 – Comparação das médias de expressão gênica da miostatina na interação sistema x fase de cultivo	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIT	Asian Institute of Technology
EPUEL	Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina
FAO	Food and Agriculture Organization of United Nations
GxA	Interação genótipo ambiente
GIFT	Genetically Improved Farmed Tilapia
GP	Ganho em peso
GPD	Ganho em peso diário
GST	Genomar Supreme Tilapia
ICLARM	International Center for Living Aquatic Resources Management
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
PF	Peso final
PI	Peso inicial
SEAP	Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca
UEM	Universidade Estadual de Maringá

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	TILÁPIA DO NILO	15
2.2	VARIEDADES GENETICAMENTE MELHORADAS	16
2.3	A INFLUÊNCIA DO AMBIENTE DE CULTIVO	18
2.4	CRESCIMENTO MUSCULAR EM PEIXES	21
2.5	REGULAÇÃO DO CRESCIMENTO MUSCULAR PELA MIOSTATINA	24
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	ARTIGO A – DESEMPENHO DE TILÁPIAS DO NILO DE DUAS VARIEDADES (GIFT E SUPREME) CULTIVADAS EM HAPAS E VIVEIROS ESCAVADOS	28
5	ARTIGO B – MORFOLOGIA E EXPRESSÃO GÊNICA MUSCULAR DE TILÁPIAS DO NILO DAS VARIEDADES GIFT E SUPREME CRIADAS EM DOIS SISTEMAS DE CULTIVO	53
6	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77
	APÊNDICES	87
	APÊNDICE A – Efeitos e interações a 5% de significância em cada parâmetro avaliado.....	88
	APÊNDICE B – Médias para Peso (g), Altcab (cm) e CP (cm)	89
	APÊNDICE C – Médias para Ctr (cm), Ccab (cm), Altcorp (cm) e Larg(cm).....	90
	APÊNDICE D – Comparação das médias na interação variedade x sistema.....	91
	APÊNDICE E – Médias para ganho em peso (g) por fase de cultivo.....	92

1 INTRODUÇÃO

O aumento da população humana trouxe consigo alguns problemas graves, entre eles a necessidade do aumento da produção de alimentos. Por isso, alternativas têm sido buscadas, de forma a suprir o déficit da oferta de proteínas de origem animal. Nesse cenário, a aquicultura surgiu como uma das atividades agropecuárias mais promissoras (incluindo atividades como a piscicultura, carcinicultura, malacocultura, algocultura, entre outros) (CARMO et al., 2008), que além da produção de alimentos, apresenta benefícios socioeconômicos como geração de empregos e aumento do acesso ao alimento para pessoas com baixa renda (SILVA, 2012).

Como exemplo do potencial produtivo da aquicultura, em termos mundiais a produção resultante desta atividade vem apresentando resultados crescentes, passando de 38.915.699 toneladas produzidas no ano de 2003 para 66.633.253 toneladas em 2012 (FAO, 2014). No Brasil, o avanço também foi expressivo, passando de 337.353 toneladas produzidas em 2009 para 544.490 toneladas em 2011 (MPA, 2013). No entanto há necessidade do aumento da produtividade, visto que atualmente quase metade da produção já é proveniente da aquicultura, e ainda há a possibilidade que a demanda por pescado aumente nas próximas décadas, devido a fatores socioeconômicos, de saúde e religiosos, o que aumentará a dependência de produtos provenientes desta atividade (ROCHA et al., 2013).

Dentre as atividades ligadas à aquicultura, a piscicultura possui grande destaque. O incremento na demanda mundial por carne proveniente desta atividade é resultado do aumento da população mundial, aumento da renda, pelos benefícios gerados por este tipo de alimento, bem como pela exaustão dos estoques naturais em rios e mares (FÜLBER et al., 2009). O Brasil possui elevado potencial para o desenvolvimento desta atividade devido a características como sua extensa área costeira, grande disponibilidade de água doce, correspondente a aproximadamente 13% do conteúdo global renovável (ROCHA et al., 2013), clima tropical na maioria do território, grande quantidade de grãos produzidos, disponibilidade de insumos para rações (KUBITZA, 2013), dentre outros diversos fatores favoráveis.

Dentre várias espécies de peixes cultivadas em nosso país, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a que mais vem se destacando. Essa espécie apresenta diversas características de importância como rusticidade, tolerância a baixa qualidade da água, boa conversão alimentar, bom ganho de peso, carne de bom paladar e textura (SANTOS, 2009), hábito alimentar onívoro e habilidade de aproveitar o alimento natural presente no ambiente

(WATANABE et al., 2002), o que torna sua criação pouco onerosa (TURKER; EVERSOLE; BRUNE, 2003). Além disso, podem ser cultivadas em uma grande diversidade de sistemas, desde pequenos viveiros até em sistemas intensivos, o que tem possibilitado sua expansão nos últimos anos (SANTOS, 2009).

Devido ao avanço da tecnologia em tilapicultura e as boas características desta espécie, tem havido procura por variedades com desempenho produtivo satisfatório, além da adaptação aos ambientes de cultivo, para atender as perspectivas do mercado (NEVES et al., 2008). Contudo, devido aos diferentes processos de desenvolvimento e seleção aos quais as diferentes variedades foram submetidas, têm sido observadas diferenças de desempenho (CARMO et al., 2008; NEVES et al., 2008; ZANONI; CAETANO FILHO; LEONHARDT, 2000). Assim, em decorrência da diversidade de sistemas de cultivos e ambientes aos quais as tilápias são expostas, é necessária a avaliação do comportamento produtivo das variedades em cada sistema, devido a influência ambiental ocasionada pelo tipo de sistema (ABOU et al., 2013; CHARO-KARISA et al., 2006), ou pela adaptabilidade de certa variedade a determinado ambiente (BENTSEN et al., 2012).

Outro aspecto importante a ser levado em consideração em termos produtivos, é a musculatura esquelética, pois em peixes representa aproximadamente 60% da massa corporal, havendo destaque para a musculatura branca, que constitui no mínimo 90% da musculatura total (ALAMI-DURANTE, 2010a). Assim, existe a necessidade do entendimento dos processos ocorridos no crescimento deste tecido. O crescimento muscular ocorre por meio dos mecanismos de hiperplasia (aumento do número de fibras) e hipertrofia (aumento do diâmetro das fibras) (ALMEIDA et al., 2010), sendo sua regulação realizada pela expressão dos Fatores Reguladores da Miogênese (MRF), MyoD, Myf5, mrf4 e miogenina (CARANI et al., 2013). Ainda há o controle negativo do crescimento, realizado por fatores como a miostatina que inibe a proliferação e diferenciação de células precursoras musculares, ao controlar a atividade dos MRFs (LANGLEY et al., 2002; SEILIEZ; SABIN, GABILLARD, 2012).

Com base no exposto, este estudo teve a finalidade de avaliar a influência do cultivo em hapas e viveiros escavados sobre o desempenho, a distribuição do diâmetro das fibras musculares brancas e expressão gênica do fator de regulação negativa do crescimento muscular, miostatina, nas variedades GIFT e Supreme no decorrer das fases de cultivo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TILÁPIA DO NILO

Tilápia é o termo comum utilizado para designar as espécies de peixes dos gêneros *Oreochromis*, *Sorotherodon* e *Tilapia*, todos pertencentes à família Cichlidae (WATANABE et al., 2002), que são originários da África e do Oriente Médio (LEE et al., 2005). Pelo fato dos peixes do gênero *Tilapia* ter sido os primeiros a serem criados e difundidos, as espécies dos demais gêneros passaram a ser conhecidas por este nome (NOGUEIRA, 2003).

Dentre as diversas espécies, as pertencentes aos gêneros *Oreochromis* e *Tilapia* representam nos dias atuais o grupo de peixes com maior crescimento mundial, sendo criadas em mais de uma centena de países (MASSAGO et al., 2010). Nesse contexto, o gênero *Oreochromis* é o que apresenta maior número de espécies, entre elas *O. mossambicus*, *O. aureaus* e *O. niloticus* (NACHTIGALL, 2012), sendo esta última espécie, conhecida popularmente como tilápia do Nilo, que mais vem se destacando entre as demais.

A tilápia do Nilo é assim denominada por ser originária da bacia do rio Nilo, sendo atualmente a espécie de tilápia mais cultivada no mundo. Sua popularidade se deve a características como resistência ao manejo, elevado crescimento, hábito alimentar onívoro (NOGUEIRA, 2003), adaptabilidade a diversos ambientes e sistemas produtivos, fácil reprodução e prolificidade (MARECO, 2012). Além disso, a sua carne possui características apreciadas pelos consumidores, tais como coloração branca, textura firme, sabor suave, ausência de odor desagradável e ausência de espinhas em “Y” (SOUZA, 2002). Esses fatores a tornam uma das espécies mais apropriadas para a aquicultura, o que é demonstrado pela sua alta produção mundial. Segundo o boletim estatístico da FAO (FAO, 2014), a produção no ano de 2012 foi de 3.197.330 toneladas, sendo a espécie de peixes com maior produção depois das carpas (capim, prateada e comum).

No Brasil, foi introduzida no ano de 1971, a partir de peixes oriundos da Costa do Marfim, e desde então tem sido distribuída por todo o país sendo encontrada desde a bacia Amazônica até o Rio Grande do Sul (BOSCOLO et al, 2001). Além da expansão da sua distribuição em nosso país, é atualmente a espécie de peixe de água doce com maior produção, com 253.824,1 toneladas em 2011 de um total de 544.490,0 toneladas produzidas para todas as espécies, de acordo com o Boletim da Pesca e Aquicultura (MPA, 2013). Contudo, mesmo com todo este avanço, ainda é necessário aumentar a produtividade, devido

às exigências atuais. Para atender as perspectivas dos mercados consumidores tem havido a demanda crescente por variedades com desempenho satisfatório, bem como a sua adaptação ao ambiente de cultivo (NEVES et al., 2008). Estes aspectos são de extrema importância, devido à disponibilidade de variedades com desempenhos variados aos diversos sistemas de cultivo existentes.

2.2 VARIEDADES GENETICAMENTE MELHORADAS

O aumento da produção na tilapicultura ocorrido nos últimos anos em todos os continentes é consequência do uso de diversas tecnologias (NOGUEIRA, 2003), entre as quais se destacam os programas de seleção e melhoramento genético.

O crescimento dos peixes, considerado por muitos como a principal característica de desempenho, tem sido otimizado por programas de melhoramento genético (SANTOS; MARECO; DAL PAI SILVA, 2013), sendo o principal foco também da seleção em tilápias, levando em conta aspectos como ganho em peso e peso à despesca (SANTOS, 2009). Contudo, além das características de crescimento, outras características como adaptabilidade aos diversos sistemas de cultivo e qualidade de carcaça e carne, devem ser levadas em consideração (SANTOS et al., 2007).

A primeira variedade de tilápia introduzida no Brasil no início da década de 70 foi a Bouaké, proveniente da Costa do Marfim (FÜLBER et al., 2009). Esta introdução foi realizada com um baixo número de indivíduos, razão pela qual na década de 90 começaram a ser encontradas anomalias genéticas em 5 a 10% dos exemplares de algumas desovas, que também apresentavam baixos níveis de crescimento e rendimento de carcaça (ZIMMERMAN, 1999). Esses resultados negativos podem ter sido proporcionados pelo cruzamento entre indivíduos aparentados por diversas gerações (LUPCHINSKI JR. et al., 2011). Assim, com o intuito de evitar os riscos causados pela consanguinidade, foram introduzidas novas variedades no país, e em consequência disso, têm sido trazidas variedades com expressivo ganho genético, pelo fato destas terem sido geneticamente melhoradas (ALMEIDA, 2012). Desta forma, no ano de 1996 foi trazida para o Brasil, a variedade Tailandesa, também conhecida como Chitralada, por ter sido melhorada no palácio real de mesmo nome, na Tailândia, sendo a introdução feita por meio de alevinos doados pelo *Asian Institute of Technology* (AIT), e a partir disso têm sido melhorada em nosso país (ZIMMERMAN, 2000). Após a introdução desta variedade melhorada, foram introduzidas outras variedades, dentre estas, a Supreme ou GST (*Genomar Supreme Tilapia*) e a GIFT

(*Genetically Improved Farmed Tilapia*). Estas últimas variedades possuem a mesma origem, mas passaram por processos de melhoramento distintos a partir do ano de 1999 (MASSAGO et al., 2010).

O programa de melhoramento GIFT, do qual vem a variedade de mesmo nome, tem importância no seu desenvolvimento pelo pioneirismo no melhoramento genético de peixes tropicais (LUPCHINSKI JÚNIOR et al., 2008), sendo conduzido inicialmente pelo *International Center for Living Aquatic Resources Management* (ICLARM), e depois pelo *World Fish Center*. O projeto GIFT, foi executado nas Filipinas (SANTOS et al., 2006), e se deu pelo cruzamento de quatro variedades selvagens africanas (vindas de Gana, Egito, Quênia e Senegal) e quatro variedades domésticas asiáticas (das Filipinas; Singapura e Taiwan, ambas provenientes de Israel; e da Tailândia, proveniente provavelmente do Egito) (MASSAGO et al., 2010). A introdução da variedade GIFT no Brasil ocorreu em 2005, quando a Universidade Estadual de Maringá (UEM) recebeu tilápias que representavam 30 famílias, por meio de um projeto em conjunto com o *World Fish Center* e o apoio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP) (LUPCHINSKI JÚNIOR et al., 2008), e à partir de então, foi iniciado seu programa de melhoramento genético, que hoje se encontra na oitava geração de seleção no Brasil.

A variedade Supreme ou GST (*Genomar Supreme Tilapia*), foi desenvolvida pela empresa norueguesa *Genomar*. É oriunda também do projeto GIFT, e após a finalização deste programa todos os direitos de comercialização foram adquiridos pela *Genomar*, assim como todo material genético gerado após a 10ª geração (ZIMMERMANN, 2003). Desde o ano de 1999, a *Genomar* vem realizando um programa de melhoramento genético desta variedade, além de sua distribuição para diversos países (MASSAGO, 2007). No Brasil, sua introdução foi realizada no ano de 2002 pela empresa Aquabel do município de Rolândia - PR (ALMEIDA, 2012).

Alguns trabalhos têm demonstrado o elevado potencial produtivo destas duas variedades. Avaliando diferentes variedades, Fülber et al. (2010), observaram maiores valores de ganho de peso e parâmetros biométricos para a variedade GIFT em relação às variedades Bouaké e Chitralada, para todas as variáveis comparadas, que segundo os autores, seria resultado do melhoramento genético realizado nessa variedade. Vieira et al. (2005), obtiveram maior peso final para a variedade Supreme em duas fases de cultivo, quando comparada com as variedades Chitralada (UEM), Bouaké (UEM) e Chitralada (Piscicultura Aquabel).

Trabalhos avaliando conjuntamente ambas as variedades demonstram desempenho semelhante. Foi observado por Massago et al. (2010) maiores pesos médios finais e comprimento padrão em alevinos das variedades Supreme e GIFT, sendo que a segunda obteve resultados semelhantes a Chitralada, que não diferiu da variedade Bouaké. Ao avaliarem o crescimento sob diferentes temperaturas, Santos, Mareco e Dal-Pai Silva (2013), obtiveram maior peso final para ambas as variedades em temperaturas elevadas (28 e 30°C) quando comparadas à variedade Vermelha. Isso indica a eficiência dos programas de seleção pelos quais passaram estas variedades, demonstrando sua aptidão para ao cultivo.

2.3 A INFLUÊNCIA DO AMBIENTE DE CULTIVO

Além do bom desempenho das variedades, outro aspecto importante é a adaptabilidade aos sistemas de cultivo e ambientes onde serão inseridas. O sistema de cultivo, devido às condições ambientais presentes, tem grande influência no desempenho das tilápias. As variáveis ambientais individualmente ou em combinação podem ter efeito direto sobre a musculatura esquelética, por meio de fatores como dieta e temperatura, ou ainda pode agir indiretamente sobre outros sistemas fisiológicos, como por exemplo, no caso de variação química do ambiente (JOHNSTON, 2006). Assim, esta influência é altamente relevante, visto que o tecido muscular é o de maior importância para a tilapicultura.

Concordando com isso, Petersen et al. (2012), comentaram que um aspecto importante a ser observado nas populações a serem cultivadas é a necessidade da presença de alta diversidade genética, devido a existência de grande diversidade ambiental a que as progênes serão expostas. Assim, a variabilidade genética das variedades, que segundo Oliveira et al. (2011) foi objetivo do uso das oito variedades puras no projeto GIFT, pode ser um fator determinante na adaptabilidade das variedades GIFT e Supreme às diversas condições ambientais a que podem ser expostas.

Na tilapicultura, o cultivo é realizado em diversos sistemas, indo desde semi-intensivo em viveiros escavados recebendo dejetos de animais até em sistema intensivo em raceways e tanques rede (BOSCOLO et al., 2001), o que torna a influência do ambiente fator determinante da produtividade. De uma forma geral, o que varia principalmente entre os diferentes sistemas é a capacidade de suporte, que é influenciada pelo nível de renovação de água e pelo tipo e quantidade de alimento disponível. No cultivo em viveiros sem adição de nutrientes por meio de rações ou fertilização podem ser obtidas produções de 300 a 500 kg por hectare, sendo que no cultivo em viveiros com utilização de rações podem ser alcançadas

produções de 5.000 a 80.000 kg por hectare e no cultivo em tanques rede de pequeno volume, devido a renovação de água e remoção de resíduos, podem ser obtidos de 150 a 300 kg por m³ (KUBITZA, 2011).

Outro fator relativo ao meio de cultivo que pode alterar a produtividade é a densidade de criação, pois influencia a biomassa produzida. Marengoni (2006), avaliando o desempenho de tilápias em tanques-rede encontrou efeito crescente da densidade, alcançando maior biomassa para densidade de 400 peixes/m³, em relação às menores densidades avaliadas. Silva et al. (2002), observaram aumento da biomassa em densidades de 150 peixes/m³ em relação a 120 peixes/m³, no entanto, os melhores resultados ocorreram em maiores níveis de renovação de água. Em contrapartida, alguns resultados demonstram a diminuição da produtividade com o aumento de densidade. Ridha (2006), avaliando o efeito da densidade sobre três variedades de tilápia, apesar de encontrar maior biomassa para a densidade de 200 peixes/m³, obteve melhores pesos médios, ganho em peso diário e taxa de crescimento específico para densidade de 125 peixes/m³. El-Sayed (2002), avaliando o desempenho e sobrevivência de larvas de tilápia criadas sob diferentes densidades (3,5,10,15 e 20 larvas /litro), obteve resultados superiores para as menores densidades (5 e 6 larvas/litro). Assim, mesmo proporcionando maior capacidade de suporte, altas densidades podem prejudicar o desempenho e a sobrevivência.

Do ponto de vista nutricional, a presença de alimento natural representa um fator ambiental de extrema importância. A possibilidade de serem cultivadas em sistemas extensivos ou semi intensivos em viveiros, onde há dependência da produção natural do viveiro, se deve ao fato de as tilápias serem capazes de se alimentar de algas, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, bactérias e detritos, tornando sua alimentação pouco onerosa (WATANABE et al., 2002). Assim, a presença deste tipo de alimento, em especial o fitoplâncton, é de extrema importância, pois de acordo com Faria et al. (2001), a tilápia do Nilo, assim como outras espécies de importância econômica tem este como um dos principais itens de sua dieta. Esse aspecto torna possível o cultivo de tilápias a baixos custos em sistemas extensivos e semi intensivos, podendo ser realizado com a mínima utilização de fertilizantes ou alimentos suplementares (WATANABE et al., 2002), pois o fitoplâncton representa a forma de transferência da energia solar e dos nutrientes para os consumidores, determinando dessa forma a produtividade do sistema de cultivo (FARIA et al., 2001). Contudo o zooplâncton, apesar de em menor proporção, apresenta importância na alimentação de tilápias, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. Engdaw, Dadebo e Nagappan (2013), avaliando o hábito alimentar de tilápias do Nilo de diferentes tamanhos em

ambiente natural no lago Loka, Etópia, observaram zooplâncton e insetos, como principais itens alimentares em peixes com até 10 cm de comprimento total.

Pesquisas têm demonstrado a importância do alimento natural para o cultivo de tilápias. Rocha Loures et al., (2001), avaliando o hábito alimentar de alevinos de tilápia, observaram que apesar da dieta artificial ter sido o principal alimento consumido em alguns horários do dia, a quantidade total de alimento natural consumido foi praticamente a mesma, sendo este tipo de alimento constituído principalmente por fitoplâncton. Muendo et al. (2006), ao avaliarem o efeito de diferentes estratégias alimentares sobre a produtividade de tilápias do Nilo, observaram que peixes cultivados em viveiros recebendo fertilização orgânica sem suplementação de dieta artificial, podem apresentar desempenho semelhante a peixes recebendo dietas artificiais quando cultivados em viveiros sem fertilização. Adicionalmente, demonstrando que a ausência de alimento natural pode comprometer o desempenho, Abou et al. (2013), observaram maior peso médio final para tilápias cultivadas em viveiros escavados em relação às cultivadas em tanques de concreto, quando alimentadas com as mesmas dietas. Esses resultados sugerem que a presença de alimento natural, além de acarretar em menores gastos com a alimentação, devido ao hábito alimentar natural da tilápia, pode proporcionar melhor desempenho.

A influência dos diferentes fatores ambientais pode gerar efeitos distintos em cada variedade, pois segundo Charo-Karisa et al. (2006), o mesmo genótipo pode proporcionar diferentes resultados de desempenho quando submetidos a ambientes distintos. Por isso é de extrema importância a avaliação das variedades em diferentes ambientes e sistemas de cultivo, pois parâmetros genéticos são apenas aplicáveis na população e no ambiente onde foram obtidos (SANTOS, 2009). Assim, os programas de melhoramento genético devem gerar populações adaptadas a diferentes ambientes (WATANABE et al., 2002), de forma a proporcionar bons resultados no maior número de sistemas de cultivo possíveis. Para isso, a compreensão dos fatores ambientais que influenciam a expressão das características genéticas é importante para realização do correto manejo do sistema de criação, pois mesmo em ambientes aparentemente semelhantes, pode ocorrer variação no desempenho dos peixes (CHARO-KARISA et al., 2006). Nos programas de melhoramento de peixes a seleção é realizada em locais com as condições ambientais controladas, com avaliação em uma grande variedade de ambientes de produção possíveis, podendo resultar em interação entre genótipo e o ambiente (GxA). Esta interação descreve casos onde genótipos não se expressam da mesma forma em diferentes ambientes (KHAW et al., 2012). Assim, determinado grupo genético irá apresentar melhor desempenho em ambientes com condições

semelhantes nas quais foi selecionado. Neste contexto, devido a diferenças de adaptabilidade, há modificação do desempenho e do mérito genético de acordo com o ambiente onde são criados (SANTOS, 2009), podendo gerar resultados abaixo do esperado.

Esse tipo de situação foi encontrada por Bentsen et al. (2012) que ao avaliarem parâmetros genóticos e fenóticos para peso a despesca de cinco gerações consecutivas da variedade GIFT cultivadas em oito diferentes ambientes, observaram elevada correlação genética entre todos os tipos de cultivos, exceto para um cultivo intensivo em tanques rede, que apresentou baixa correlação genética em relação aos demais, indicando a presença da interação GxA. Segundo os próprios autores, isso sugere que a resposta correlacionada mais baixa para este sistema de cultivo se deve ao fato do programa de melhoramento nesta variedade ter sido realizado de uma forma geral em viveiros escavados. Contrariamente, Khaw et al. (2012), ao avaliarem o desempenho de três gerações da variedade GIFT na Malásia cultivadas em tanques-rede e viveiros, encontraram elevada correlação genética para os diversos parâmetros produtivos avaliados em ambos os cultivos, demonstrando haver uma baixa interação GxA. Charo-Karisa (2006), encontraram baixa correlação genética para peso à despesca entre tilápias cultivadas em dois viveiros escavados com características similares, indicando haver interação GxA, que possivelmente ocorreu devido às diferenças de oxigênio dissolvido (OD) existente entre os viveiros. Além disso, foi encontrada diferença de desempenho entre peixes de mesmas famílias em cada um dos viveiros, o que segundo os autores, sugere que certos genótipos podem apresentar maior tolerância a condições estressantes, entre estas, baixos níveis de OD. Isso pode ser explicado pelo fato de que mesmo sistemas parecidos podem proporcionar diferentes resultados, visto que a interação GxA, pode estar relacionada com certos fatores presentes no ambiente, e não no sistema como um todo.

2.4 CRESCIMENTO MUSCULAR EM PEIXES

Da perspectiva da aquicultura, o tecido muscular é um dos que apresenta maior importância, visto que a quantidade e qualidade de carne são os principais focos da atividade. Este tecido é composto por células modificadas e altamente especializadas, as fibras musculares, que são alongadas e contém vários núcleos situados abaixo da membrana plasmática (MARECO, 2012). Nos peixes é importante em termos de quantidade, representando de 40 a 75% da massa corporal total, sendo distribuído nos compartimentos: vermelho, intermediário e branco (AGUIAR et al., 2005). Uma variedade de outros tipos de

fibra tem sido descritos, mas com pouca importância para a aquicultura (JOHNSTON, 1999). As fibras musculares são classificadas levando-se em consideração a velocidade de contração, que pode ser lenta ou rápida; e a atividade metabólica, classificada como aeróbica/oxidativa e anaeróbica/glicolítica (MARECO, 2012).

A musculatura vermelha apresenta metabolismo aeróbico com contração lenta, sendo utilizada em movimentos lentos e constantes, como por exemplo, os utilizados nas migrações (NACHTIGALL, 2012). As fibras intermediárias apresentam características e metabolismo intermediários entre as fibras vermelhas e brancas (AGUIAR et al., 2005). As fibras musculares brancas apresentam metabolismo anaeróbico e estão envolvidas em movimentos de alta velocidade, além disso, representam a principal parte comestível da musculatura dos peixes (JOHNSTON, 1999).

Apesar da existência destes três tipos principais, o tecido muscular branco é o mais relevante em termos produtivos. Este tecido representa mais de 90% da musculatura esquelética na maioria dos peixes teleósteos, por isso, variações no crescimento muscular destes animais são relacionadas a alterações no crescimento total deste tecido (ALAMI-DURANTE et al., 2010a). Isso concorda com o observado por Alami-Durante et al. (2010b), que constataram que a diminuição no crescimento observado em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas a base de dietas com alto nível de substituição de farinha de peixe por fontes de proteína de origem vegetal estava relacionado com a diminuição do tamanho médio das fibras musculares brancas.

O processo de crescimento muscular em peixes, de uma forma geral, está relacionado com o recrutamento de populações de células precursoras denominadas mioblastos ou células mio-satélites (NACHTIGALL, 2012). Por meio destas células precursoras, o crescimento muscular ocorre através de dois mecanismos: hiperplasia e hipertrofia. No processo de hiperplasia, os mioblastos indiferenciados se unem a superfície de fibras existentes, gerando os miotubos, que se separam originando novas fibras musculares (AGUIAR et al., 2008). No crescimento hipertrófico, o volume das fibras é aumentado, além de ocorrer a absorção do núcleo dos mioblastos de forma a manter a razão entre núcleo e mioblastos constantes (NACHTIGALL, 2012). De uma maneira geral, a hiperplasia é caracterizada pela presença de fibras com diâmetros muito pequenos, e a hipertrofia, pela presença de fibras com elevados diâmetros (NEJEDLI et al., 2011).

Em peixes, o crescimento hiperplásico ocorre de forma mais pronunciada nos estágios iniciais e o hipertrófico durante a fase adulta. Concordando com isso, Almeida et al. (2008), estudando o crescimento de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) observaram elevado

número de fibras com diâmetro $<20 \mu\text{m}$ em juvenis, demonstrando alto nível de crescimento hiperplásico, e fibras com diâmetro $>50 \mu\text{m}$ perfazendo a maioria do total de fibras em adultos, evidenciando elevada contribuição do crescimento hipertrófico. Por outro lado, diferente de outros animais, os peixes têm a habilidade de recrutar novas fibras musculares mesmo durante a vida adulta (ALAMI-DURANTE et al., 2010b), havendo, portanto a contribuição do mecanismo hiperplásico também nesta fase de crescimento. Isso ocorre em peixes com padrão indeterminado de crescimento, espécies que apresentam o aumento da massa muscular durante toda a vida, sendo esse aumento possível pela contínua produção de fibras musculares (hiperplasia) associada ao aumento do tamanho das fibras (hipertrofia) (SEILIEZ; SABIN; GABILLARD, 2012). A tilápia do Nilo é um exemplo da presença desse tipo de crescimento. Isto foi demonstrado por Aguiar et al.(2008), que encontraram aumento na frequência de fibras de elevado diâmetro em peixes adultos com 90 e 190 dias, no entanto, houve presença de fibras menores nestas idades, mesmo que em pequenas quantidades.

A contribuição relativa dos mecanismos de hipertrofia e hiperplasia acarreta em alterações da distribuição do tamanho das fibras musculares, sendo esta distribuição denominada celularidade muscular (ALAMI-DURANTE et al., 2010a). A celularidade apresenta considerável plasticidade, sofrendo a influencia de fatores como exercício, alimentação e diversos fatores ambientais, sendo que a resposta depende da espécie e da fase de desenvolvimento do peixe (JOHNSTON, 1999). A plasticidade do tecido muscular é a capacidade deste tecido de se alterar metabolicamente, morfológicamente e funcionalmente (MARECO, 2012). Estas modificações podem ocorrer na fase embrionária ou larval, sendo irreversível devido à intensidade que ocorre o desenvolvimento, ou na fase adulta por meio de aclimação ao ambiente, sendo neste caso completamente reversível (JOHNSTON, 2006). Assim, a plasticidade, é um aspecto de alta importância relacionado com a adaptação do indivíduo ao ambiente onde está inserido (MARECO, 2012), que influencia a celularidade muscular.

Além dos fatores ambientais, fatores genéticos também podem influenciar na distribuição do tamanho das fibras. Valente et al.(1999), encontraram diferenças na distribuição de fibras entre uma variedade com crescimento acelerado (variedade Cornec) e uma com crescimento lento (variedade Mirwart) de truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), o que evidencia a influencia do genótipo na celularidade muscular. O mesmo foi observado em tilápia do Nilo por Santos et al. (2012), que ao avaliarem o crescimento muscular de duas variedades observaram que a contribuição da hipertrofia para a variedade Supreme foi superior a encontrada para variedade Chitralada. Assim, fica demonstrado que não apenas a

plasticidade muscular influenciada pelo ambiente pode alterar a distribuição dos diâmetros das fibras, mas também o genótipo, sendo necessário levar em conta ambos os fatores. Além disso, como o estado metabólico determina a amplitude do crescimento muscular é necessário saber se as alterações do metabolismo estão relacionadas à expressão de genes ligados ao crescimento muscular e como esta regulação é realizada (JOHANSEN e OVERTURF, 2006).

2.5 REGULAÇÃO DO CRESCIMENTO MUSCULAR PELA MIOSTATINA

Devido à grande importância que a tilápia apresenta para aquicultura é necessário o entendimento dos mecanismos regulatórios moleculares envolvidos no desenvolvimento muscular (YAN et al., 2013), visto que o objetivo principal no cultivo é a produção de músculo esquelético. O crescimento muscular em peixes depende da proliferação e diferenciação dos mioblastos, que expressam diversos ativadores transcricionais que controlam a expressão de genes músculo-específicos contribuindo para a hiperplasia e hipertrofia (AGUIAR et al., 2008).

Ambos os mecanismos são regulados pela expressão seqüencial dos fatores reguladores miogênicos (MRFs) (CARANI et al., 2013), que pertencem a um grupo de fatores de transcrição, do qual fazem parte a miogenina, *mrf4*, *myoD* e *myf5* (YAN et al., 2013). Durante a miogênese os diferentes MRFs são expressos de forma seqüencial, sendo que *myf5* e *myoD* são necessários para proliferação e especificação das células precursoras miogênicas e *mrf4* e a miogenina responsáveis pela diferenciação dos mioblastos e formação das fibras musculares (RESCAN, 2001), sendo por isso, os dois primeiros são denominados MRFs primários e os outros dois, MRFs secundários (JOHANSEN e OVERTURF, 2006).

Além dos MRFs, ocorre a ação de outros fatores reguladores no crescimento muscular, dentre eles a miostatina, que faz parte da superfamília *TGF- β* (Transforming Growth Factors β), grupo de compostos que regulam negativamente o crescimento muscular (SEILIEZ; SABIN, GABILLARD, 2012). Nos peixes teleósteos, diferentemente dos mamíferos, a miostatina não apresenta um único gene, havendo ao menos dois parálogos, *Mstn-1* e *Mstn-2*, além de não estar restrita ao tecido muscular, possuindo outras funções em diversos tecidos (SANTIS; GOMES; JERRY, 2012), apesar da maior importância de sua função na musculatura estriada esquelética.

A miostatina, da mesma forma que outros membros de seu grupo, é sintetizada como uma proteína precursora, que passa por dois eventos proteolíticos que geram a molécula biologicamente ativa, mas tem sua atividade inibida por um complexo que impede

que se ligue a seu receptor (Xi et al., 2011). Sua função é controlar a proliferação e diferenciação de mioblastos por meio da inibição da atividade dos MRFs (LANGLEY et al, 2002; SEILIEZ; SABIN, GABILLARD, 2012).

Resultados de alguns estudos têm comprovado este efeito inibitório da miostatina na proliferação e na diferenciação dos mioblastos. Em *Danio rerio*, a supressão da atividade da miostatina, têm resultado em aumento expressivo de massa muscular como consequência de ocorrência de musculatura dupla, devido à contribuição tanto de hiperplasia quanto de hipertrofia (ACOSTA et al., 2005; LEE et al., 2009), o que demonstra a atividade da miostatina sobre os dois processos acima referidos.

No entanto, outros demonstram apenas a ação na inibição da diferenciação destas células. Xi et al. (2011), trabalhando também com *D. rerio*, observaram que a supressão da miostatina promoveu um ligeiro aumento de peso, que possivelmente ocorreu por hiperplasia, visto que foi observado o aumento do número de fibras, mas não o aumento do diâmetro das mesmas, o que pode sugerir neste caso, o efeito da miostatina apenas na inibição da proliferação de mioblastos. Resultado semelhante foi observado por Seiliez, Sabin e Gabillard (2012), que encontraram a ação da miostatina apenas na inibição da proliferação, mas não na diferenciação de mioblastos de trutas arco íris. Mesmo com tais diferenças encontradas, é demonstrado claramente seu papel na regulação negativa do crescimento muscular.

A expressão de miostatina em peixes é regulada por uma série de fatores, entre eles a fase de crescimento. Xu et al. (2003), observaram baixa expressão da miostatina em embriões de *D. rerio*, contrastando com elevada expressão em larvas, juvenis e adultos. Johansen e Overturf (2005) observaram a variação da expressão de miostatina durante o desenvolvimento da truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), com baixos níveis em embriões; pequeno aumento em larvas; queda dos níveis em peixes com 1g e pico de expressão em adultos.

Além disso, tem sido observado o efeito de fatores ambientais e nutricionais sobre a expressão da miostatina. Weber e Bosworth (2005) observaram baixos níveis de mRNA para miostatina em bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) sob condição de baixa temperatura e restrição alimentar. Nebo et al. (2013), observaram para *O. niloticus*, que períodos de jejum podem levar ao aumento da sua expressão, com consequente diminuição da expressão das MRFs, myoD e miogenina. Galt et al. (2014), encontraram diminuição dos níveis de miostatina para trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo elevados teores de lipídeos em relação a outro grupo alimentado com dieta contendo

baixos níveis deste nutriente. Assim, é necessário o conhecimento de como e quais os fatores ambientais e inerentes aos peixes influenciam a expressão da miostatina, para entender como estes afetam o crescimento muscular.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência dos cultivos em hapas e viveiros escavados sobre o desempenho produtivo, o crescimento da musculatura esquelética branca e a expressão gênica da miostatina nas variedades GIFT e Supreme.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho através da mensuração de diversos parâmetros (peso, comprimento padrão, comprimento do tronco, comprimento de cabeça, altura da cabeça, altura do corpo e largura do corpo) nas variedades GIFT e Supreme durante as fases de alevino, juvenil, crescimento e engorda, nos sistemas de cultivo em hapas e em viveiros escavados.
- Avaliar a distribuição do diâmetro das fibras musculares brancas nas classes de diâmetros de $<20 \mu\text{m}$, entre $20\text{-}30 \mu\text{m}$ (hiperplasia), $30\text{-}50 \mu\text{m}$ e $>50 \mu\text{m}$ (hipertrofia), nas variedades GIFT e Supreme durante as fases de alevino, juvenil, crescimento e engorda, nos sistemas de cultivo em hapas e em viveiros escavados.
- Avaliar a expressão gênica muscular do fator regulador do crescimento muscular, miostatina, nas variedades GIFT e Supreme durante as fases de crescimento e de engorda nos cultivos em hapas e viveiros escavados.
- Avaliar as possíveis relações entre o desempenho, distribuição do diâmetro das fibras musculares brancas e expressão gênica da miostatina nas variedades GIFT e Supreme, durante o cultivo, nos sistemas de cultivo em hapas e em viveiros escavados.

4 ARTIGO A

DESEMPENHO DE TILÁPIAS DO NILO DE DUAS VARIEDADES (GIFT E SUPREME) CULTIVADAS EM HAPAS E VIVEIROS ESCAVADOS

PERFORMANCE OF NILE TILAPIA OF TWO VARIETIES (GIFT AND SUPREME) REARED IN HAPAS AND EARTHEN PONDS

RESUMO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixes mais produzidas mundialmente e a mais produzida no Brasil. Seu grande potencial ocorre devido ao elevado desempenho produtivo, à sua adaptabilidade a diversos ambientes e sistemas de cultivo e ao desenvolvimento de variedades genéticas com desempenho superior, entre outros fatores. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho das variedades GIFT proveniente da 5ª geração e Supreme, cultivadas em hapas alocadas em tanques de concreto e cultivadas em viveiros escavados. Inicialmente foram utilizados 200 e 1234 alevinos com peso inicial de 0,83 g de cada variedade, para os cultivos em hapas e viveiros, respectivamente. Foram realizadas biometrias aos 23, 50, 113 e 204 dias do início do experimento, com a mensuração dos seguintes parâmetros: peso, comprimento padrão, comprimento do tronco, comprimento de cabeça, altura da cabeça, altura do corpo e largura. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x 2x 4 (duas variedades, dois sistemas de cultivo e quatro biometrias), com uso de distribuição gamma devido à constatação de ausência de distribuição normal nos resíduos. Foram observados diferentes padrões de crescimento entre os parâmetros avaliados, que foram influenciados pela variedade, sistema de cultivo, biometria e pelas interações entre estes fatores. Para todos os parâmetros, foram observados resultados superiores para ambas as variedades cultivadas em viveiros escavados. Houve interação entre variedade e o sistema de cultivo para os parâmetros de comprimento padrão, comprimento do tronco e altura do corpo, demonstrando melhor desempenho da variedade GIFT cultivada em viveiro escavado. Entretanto, a variedade Supreme cultivada em hapas apresentou em algumas fases maiores valores para peso e altura da cabeça, contudo, os resultados para peso neste sistema foram abaixo dos exigidos em termos comerciais e o aumento da altura da cabeça representa um aspecto negativo, não havendo relevância destes resultados do ponto de vista produtivo. Com isso, conclui-se que o cultivo em viveiros proporcionou resultados adequados, com superioridade da variedade GIFT, que se mostrou mais apta a aproveitar as condições favoráveis deste sistema. No entanto, o mesmo não foi observado no cultivo em hapas, devido à presença de condições restritivas ao desempenho produtivo.

Palavras-chave: Ambiente de cultivo. Crescimento. Genótipo. Interação. Piscicultura.

ABSTRACT

The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the most produced fish species worldwide and the most produced in Brazil. Its great potential is due the high production performance, its adaptability to different environments and rearing systems and the development of genetic varieties with superior performance, among other factors. Thus, the objective of this study was to evaluate the performance of the GIFT from the 5th generation and Supreme varieties reared in hapas allocated in concrete tanks and reared in earthen ponds. Initially were used 200 and 1234 fry with initial weight of 0.83 g from each variety, for rearing in hapas and ponds, respectively. Biometrics were performed at 23, 50, 113 and 204 days from the beginning of the experiment, with measurement of the following parameters: weight, standard length, trunk length, head length, head height, body height and width. The statistical design used was completely randomized in a factorial 2 x 2 x 4 (two varieties, two rearing systems and four biometrics), with the use of gamma distribution due the finding of the absence of normal distribution in residuals. Different growth patterns were observed among the evaluated parameters, which were influenced by variety, rearing system, biometrics and the interactions between these factors. For all parameters were observed superior results for both varieties grown in earthen ponds. There was interaction between variety and rearing system for standard length, body length and body height parameters, showing better performance of GIFT variety grown in earthen ponds. However, the Supreme variety grown in hapas showed at some stages higher values for height and head weight, however, the results for weight in this system were below those required in commercial terms, and the increase of head height represents a negative aspect, with no relevance of these findings on the production point of view. Thus, it is concluded that the rearing in ponds provided adequate results, with superiority of the GIFT variety, which was more able to take advantage of the favorable conditions of this system. However, the same was not observed in the rearing in hapas due to the presence of restrictive conditions for productive performance.

Key words: Fish farming. Genotype. Growth. Interaction. Rearing environment.

Introdução

Dentre as espécies de peixes cultivadas, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das que mais se destacam na piscicultura mundial e na do Brasil. Em 2012, foi a quarta espécie de peixe com maior produção no mundo, com 3.197.330 toneladas produzidas (FAO, 2014), e a espécie mais produzida no Brasil no ano de 2011, com 253.824,1 toneladas (MPA, 2013). Entre as características que tornam a tilápia uma das espécies mais cultivadas, está seu elevado desempenho, sua adaptabilidade a variados climas e ambientes de criação, domínio das técnicas de cultivo e presença de características da carne buscadas pelos consumidores (MELO, 2012). Em decorrência das boas características da espécie, têm sido procuradas variedades que possuam desempenho adequado e que se adaptem aos ambientes de produção (NEVES et al., 2008), de forma a proporcionar aumento na produtividade.

Entre as variedades geneticamente melhoradas de *O. niloticus* presentes no Brasil, podem-se citar a GIFT e a Supreme, também conhecida como GST (*Genomar Supreme Tilapia*). Estas apresentam a mesma origem, no entanto passaram por diferentes processos de desenvolvimento após o ano de 1999 (MASSAGO et al., 2010), sendo ambas resultado do projeto GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*) realizado nas Filipinas à partir do final da década de 80 (ZIMMERMANN, 2003), cujo programa de melhoramento foi baseado no uso de oito variedades puras, sendo quatro domésticas provenientes da Ásia e quatro selvagens provenientes da África (MASSAGO et al., 2010). A introdução da variedade Supreme no Brasil ocorreu em 2002 através da Piscicultura Aquabel, (ALMEIDA, 2012) e da GIFT no ano de 2005 por meio da Universidade Estadual de Maringá (UEM) (LUPCHINSKI JÚNIOR et al., 2008). Algumas pesquisas têm demonstrado o bom desempenho das variedades GIFT e da Supreme quando comparadas com outras variedades e desempenhos semelhantes entre as duas variedades (FULBER et al., 2010; MASSAGO et al., 2010; SANTOS, MARECO, DAL-PAI SILVA, 2013; VIEIRA et al., 2005), indicando que são adequadas ao cultivo comercial.

O melhor desempenho de determinada variedade em comparação às outras, possivelmente se dá devido a aspectos genéticos, alimentares ou do ambiente, sendo ideal a avaliação da genética adequada para o sistema de cultivo empregado (POGGERE, 2009). Neste contexto, devido à ampla variedade de sistemas de cultivo a que as tilápias são submetidas, é necessário que as variedades apresentem alta variabilidade genética (PETERSEN et al., 2012). O projeto GIFT foi desenvolvido com o uso de oito variedades puras com o objetivo de proporcionar elevada variabilidade genética aos peixes selecionados (OLIVEIRA et al., 2011), e possivelmente este seja um dos fatores que proporcionam o adequado desempenho das variedades GIFT e Supreme. Contudo, há a necessidade de se avaliar o comportamento destas variedades nos diversos sistemas de cultivo existentes, já que existem variações ambientais entre eles, podendo gerar diferenças em desempenho.

Entre os principais fatores inerentes ao ambiente de cultivo que podem influenciar o crescimento de peixes, entre eles as tilápias, podem ser citados a temperatura, níveis de oxigênio dissolvido (OD) e o alimento disponível (YI, 1999). A temperatura pode alterar o desempenho através da alteração do consumo de alimento e da conversão alimentar, por afetar a taxa metabólica dos peixes (LIKONGWE et al., 1996; AZAZA; DHRAÏEF; KRAÏEM, 2008). Em situação de presença de baixos níveis de oxigênio, há alteração também do consumo de alimento e conversão alimentar, o que acarreta em queda de crescimento (TRAN-DUY et al., 2008; GAN et al., 2013), visto que nesta situação é gasta maior

quantidade de energia com a atividade respiratória, destinando menores proporções para outras funções fisiológicas (FERNANDES; RANTIN, 1994). Em relação ao tipo de alimento disponível, para tilápias, o alimento natural em especial o fitoplâncton, apresenta extrema importância, pois é parte essencial da dieta destes peixes em seu habitat natural (ENGDRAW; DADEBO; NAGAPPAN, 2013), podendo assim, representar grande parte do alimento consumido quando presente no ambiente de cultivo (ROCHA LOURES et al., 2001; MOREIRA et al., 2012), e no caso de serem disponibilizados em conjunto com rações comerciais proporcionam melhora no desempenho (ABOU et al., 2013), em relação a tilápias recebendo apenas rações, devido ao seu elevado valor nutricional.

Além da influência dos fatores ambientais mencionados, pode haver diferenças de desempenho de diferentes variedades em um mesmo sistema de cultivo (ROMANA-EGUIA; DOYLEB, 1992), devido à aquisição de adaptabilidade ao ambiente no qual foram selecionadas, havendo alteração no desempenho quando submetidas a condições diferentes (SANTOS, 2009). Por isso, de acordo com Charo-Karisa et al. (2006), é de extrema importância ter conhecimento de quais fatores ambientais agem sobre a expressão de determinada característica genética, para que se possa empregar manejos adequados no cultivo.

Baseado nestes fatos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos cultivos em hapas alocadas em tanques de concreto e em viveiros escavados, sobre parâmetros de desempenho produtivo nas variedades GIFT e Supreme, além de verificar a variação que ocorre nas diferentes fases de cultivo.

Material e métodos

Local de realização e condições experimentais

O cultivo dos peixes foi realizado em duas pisciculturas distintas, ambas localizadas no norte do Paraná. O experimento em hapas foi conduzido em uma piscicultura localizada no município de Londrina (23°18' de Latitude Sul e 51°08' de Longitude a Oeste de Greenwich, a uma altitude média de 519 m). O experimento em viveiros escavados foi conduzido em uma piscicultura situada no município de Florestópolis (22°50' de Latitude Sul e 51°23' de Longitude a Oeste de Greenwich, a uma altitude média de 777 m).

Foram utilizados para ambos os cultivos, alevinos de tilápia do Nilo invertidos sexualmente das variedades GIFT (proveniente da 5ª geração) e Supreme, com peso médio de 0,83 gramas e comprimento médio oscilando entre dois a três centímetros.

O período experimental foi dividido em quatro fases: cultivo de alevinos, cultivo de juvenis, crescimento e engorda, totalizando 204 dias de cultivo, tendo início em 29 de janeiro de 2013, e sendo finalizado em 20 de agosto de 2013.

Nos dois sistemas de cultivo, foram utilizados os mesmos manejos alimentares e as mesmas rações específicas para cada fase de criação. As rações utilizadas para as fases de alevinos, juvenis, crescimento e engorda, foram respectivamente: farelada com 55% de PB, extrusada 1,0 mm com 45% de PB, extrusada 1,7 mm com 42% de PB e extrusada 3,0 mm com 30% de PB. As rações foram fornecidas *ad libitum* durante todo período experimental, sendo a quantidade dividida em três porções diárias.

Foram realizadas reclassificações no decorrer do cultivo, com o objetivo de manter a uniformidade dos lotes para o início da próxima fase, com base nos pesos médios obtidos em coletas massais realizadas no fim de cada fase. Este manejo proporciona melhoria no desempenho, pois são mantidos apenas os peixes com peso adequado, sendo retirados os com menores pesos, que influenciariam negativamente os resultados, bem como os maiores, que prejudicariam a homogeneidade dos grupos de peixes. Além da promoção de resultados uniformes, outro objetivo deste procedimento foi o de manter a densidade de peixes adequada em ambos os cultivos.

Cultivo em hapas

Os peixes neste sistema de cultivo foram inseridos em hapas confeccionadas em sombrite verde em malha 1x2 mm, com 1,4 de comprimento, 0,6 m de largura e 0,8 m de profundidade, sendo inicialmente uma por variedade (Figura 1a). Estas foram alocadas no mesmo tanque de concreto com entrada e saída constante de água, que era proveniente de poço artesiano, havendo renovação total da água a cada 290 minutos.

Foram utilizados no início da primeira fase 200 alevinos de cada variedade (GIFT e Supreme), 400 no total. Contudo, com as reclassificações realizadas no fim de cada fase, o número de peixes no início de cada uma das fases seguintes foi: cultivo de juvenis: 143 de ambas as variedades; crescimento: 108 de ambas as variedades; e engorda: 40 da variedade GIFT e 60 da variedade Supreme. No início da fase de engorda, os peixes foram transferidos para um número maior de hapas, sendo os peixes da variedade GIFT separados em três hapas

e os da Supreme em quatro hapas, devido ao diferente número de peixes de cada variedade. No entanto, as hapas de ambas as variedades foram mantidas no mesmo tanque de concreto.

Figura 1 – Sistemas de cultivo utilizados



Legenda: 1a: cultivo em hapas e 1b: cultivo em viveiros

Fonte: 1a: O próprio autor; 1b: Nakamura (2013)

Cultivo em viveiros

Neste sistema de cultivo, os peixes foram alocados em viveiros escavados com 200 m² (10m x 20 m), abastecidos com água proveniente de mina, havendo 10 % de renovação diária. Os peixes permaneceram no mesmo viveiro do início ao final do período experimental, sendo utilizado um viveiro por variedade (Figura 1b). Foram utilizados inicialmente 1234 alevinos de cada variedade, totalizando 2468 alevinos. Realizou-se uma única reclassificação, no final da fase de cultivo de juvenis, devido à maior dificuldade de manejo neste sistema, sendo que a fase seguinte foi iniciada com 600 juvenis de cada variedade.

Coletas, análise dos parâmetros da água e biometrias

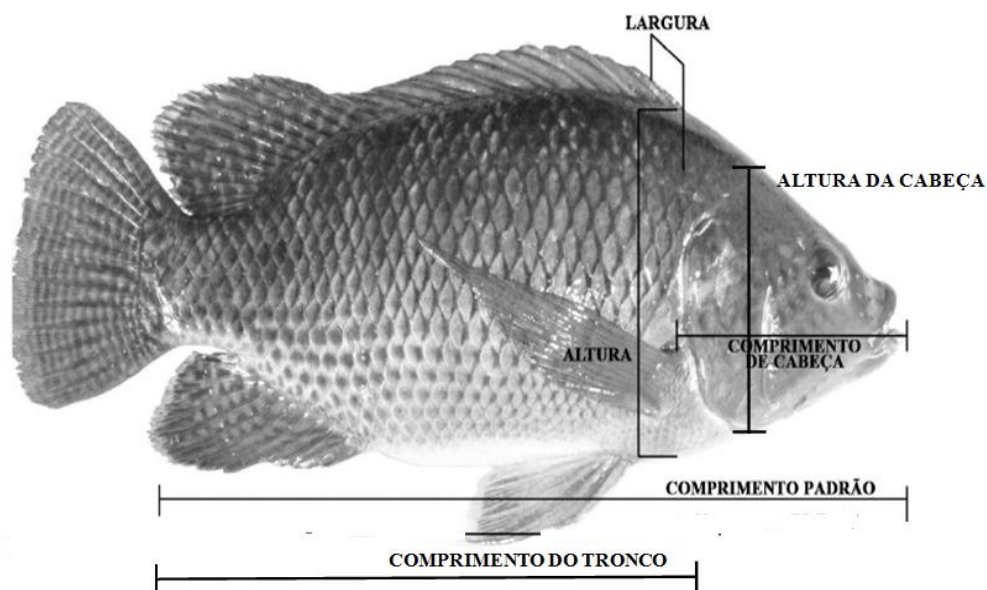
As biometrias foram realizadas 23, 50, 113 e 204 após o início do experimento, de forma a cada uma representar as fases do cultivo. Para isso, no dia anterior às biometrias, foram coletados aleatoriamente 10 peixes de cada variedade em cada um dos sistemas de cultivo, totalizando 40 peixes por fase. A única exceção foi na fase de crescimento, quando foi possível coletar apenas oito peixes da variedade GIFT cultivada em hapas ao invés de 10, o que gerou um total de 158 peixes coletados nas quatro fases.

Nas mesmas datas das coletas foram realizadas análises dos seguintes parâmetros da água de cultivo: temperatura, pH, oxigênio dissolvido (mg/L), saturação de oxigênio (%), alcalinidade (mg/L de CaCO₃), amônia tóxica e transparência.

Os peixes coletados em cada fase foram levados ao laboratório da Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina (EPUEL), onde permaneceram por aproximadamente 24 horas em repouso. Decorrido este tempo, foram insensibilizados com dose de 5 mg de eugenol (óleo de cravo) por litro de água, e em seguida, com uso de balança eletrônica de precisão, paquímetro e ictiômetro tiveram as seguintes características mensuradas (Figuras 2 e 3):

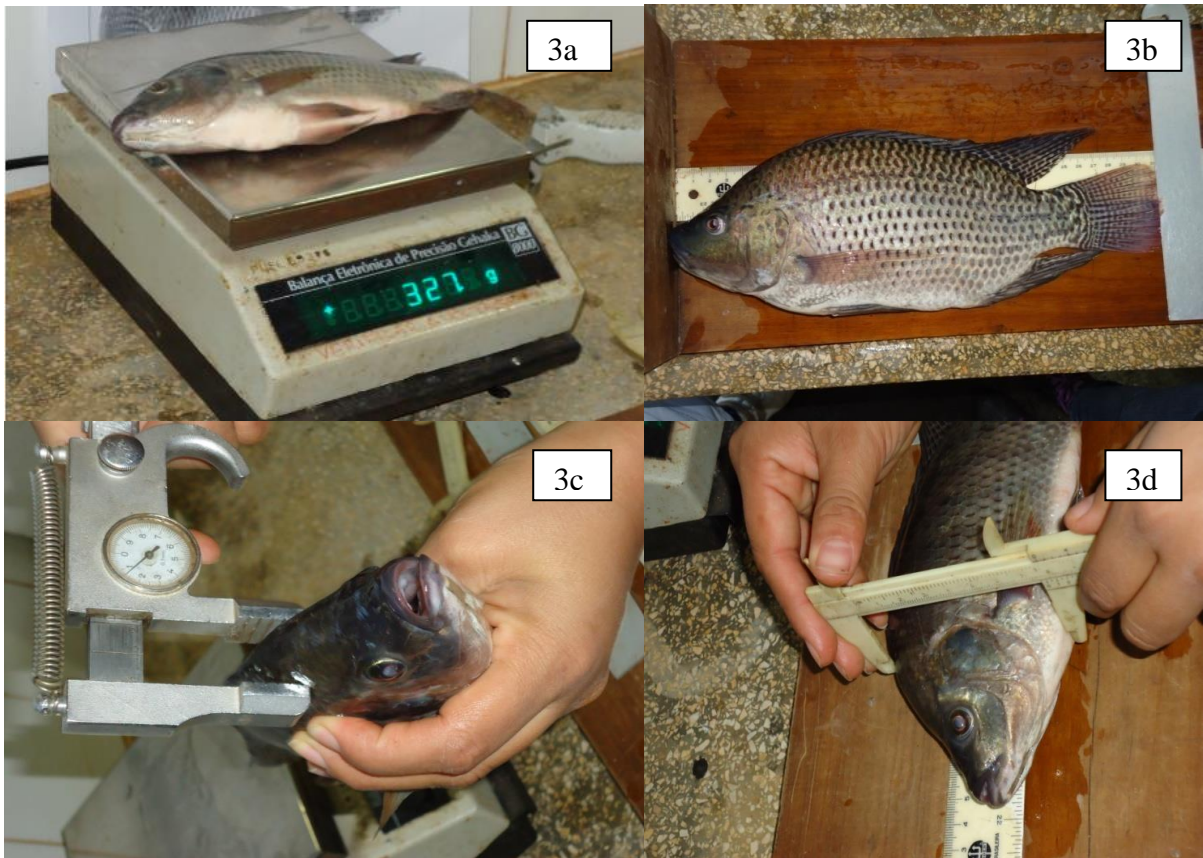
- Peso (g)
- Comprimento padrão: Do início da cabeça até a base da nadadeira caudal (cm);
- Comprimento do tronco: Distância entre o limite posterior do óperculo e a base de inserção dos raios da nadadeira caudal (cm);
- Comprimento de cabeça: Do início da cabeça até a abertura do óperculo (cm);
- Altura da cabeça: Distância máxima entre os perfis dorsal e ventral da cabeça (cm);
- Altura do corpo: Distância entre as nadadeiras dorsal e peitoral (cm);
- Largura: Medida na inserção da nadadeira dorsal (cm)

Figura 2 – Parâmetros morfométricos avaliados



Fonte: Adaptado de Oliveira (2013)

Figura 3 – Mensurações dos peixes



Legenda: 3a: pesagem; 3b: mensuração dos comprimentos total, padrão e do tronco com uso do ictiômetro em peixe da variedade GIFT; 3c: mensuração da largura; 3d: mensuração da altura da cabeça em peixe da variedade Supreme.

Fonte: O próprio autor

Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo $2 \times 2 \times 4$, sendo duas variedades, dois sistemas e quatro fases de cultivo. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico SAS. Em função da constatação da ausência de normalidade dos resíduos das características avaliadas, por meio do teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$), exceto para comprimento da cabeça, utilizou-se a metodologia de modelos lineares generalizados, considerando a distribuição gamma e função de ligação inversa. O modelo estatístico continha os efeitos de variedade, sistema e fase de cultivo, além de todas as possíveis interações destes efeitos.

Os efeitos de variedade, sistema e suas interações foram tratados por meio de comparações múltiplas de médias (teste t) a 5% de significância. Em se tratando das fases de cultivo, foram ajustados modelos de regressão linear ou quadrática. Nos casos de

existência de interação significativa a 5%, entre as fases de cultivo e as demais fontes de variação, foram ajustados modelos de regressão para fase de cultivo para cada nível de variedade (GIFT e Supreme) ou sistema de produção (hapas e viveiros escavados). Com base nos efeitos e interações em cada parâmetro, foram construídas curvas de crescimento.

Resultados e Discussão

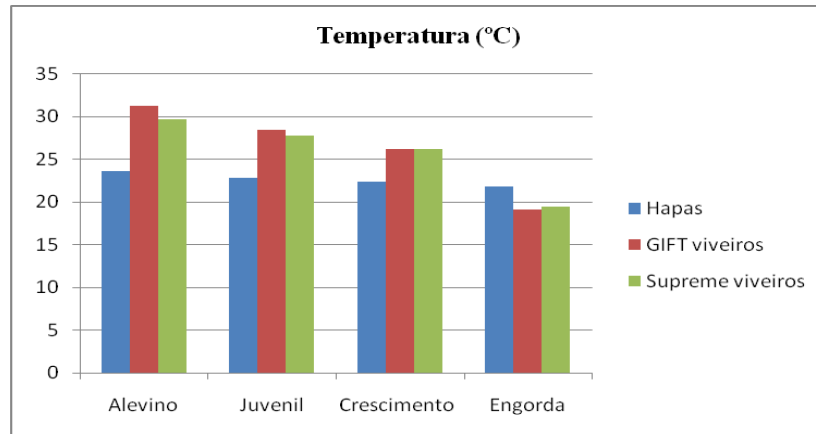
Em relação aos resultados das análises da água, foram observadas diferenças entre os sistemas no decorrer do cultivo. Para pH, os valores obtidos em cada coleta em ambos os cultivos, se mantiveram na faixa ideal para o cultivo de tilápias de 6,0 a 8,5 (KUBITZA, 2011). A alcalinidade também se manteve superior ao mínimo de 20 mg de CaCO₃/L (MORO et al., 2013) nos dois sistemas durante todo o período experimental. O mesmo foi observado para os níveis de amônia, que foram de zero durante todo período nos dois sistemas.

Quanto à temperatura da água, foram observadas diferenças entre os sistemas de cultivo (Figura 4). Segundo Kubitza (2011), a faixa ideal de temperatura para a tilápia do Nilo está entre 26 a 30°C. No cultivo em hapas a temperatura variou de 21,8 a 23,6 °C no decorrer do período experimental, estando abaixo da temperatura ideal mínima, devido ao fato da água utilizada ser proveniente de poço artesiano, ou seja, com pouca influência da temperatura externa, o que proporcionou a manutenção da temperatura baixa, sem muitas oscilações durante o período experimental. Em viveiros escavados a temperatura se encontrou dentro da faixa ideal em todas as fases em ambos os sistemas, exceto pela 1ª fase no cultivo da variedade GIFT, onde foi observada temperatura de 31,3°C, e na última fase tanto para GIFT e Supreme, onde as temperaturas foram respectivamente de 19,1 e 19,5°C, devido a esta análise ter sido realizada durante o inverno (mês de agosto).

Também foram constatadas diferenças nos níveis de oxigênio dissolvido (OD) (Figura 5), com valores abaixo ou próximos do mínimo de 3 mg/L exigido por peixes tropicais, (MORO et al., 2013), no cultivo em hapas para ambas as variedades durante todo o período experimental, e com valores acima do mínimo preconizado no cultivo em viveiros para as duas variedades durante todas as fases. Um dos fatores que possivelmente ocasionaram estes baixos níveis de OD em hapas foi a colmatação, ou seja, o bloqueio da malha ocasionado pelo acúmulo de algas que impede o fluxo adequado de água, proporcionando esses níveis baixos, o que foi observado em algumas fases (Figura 6). Ao final de cada fase os peixes eram transferidos para outro tanque (o mesmo tanque para ambas

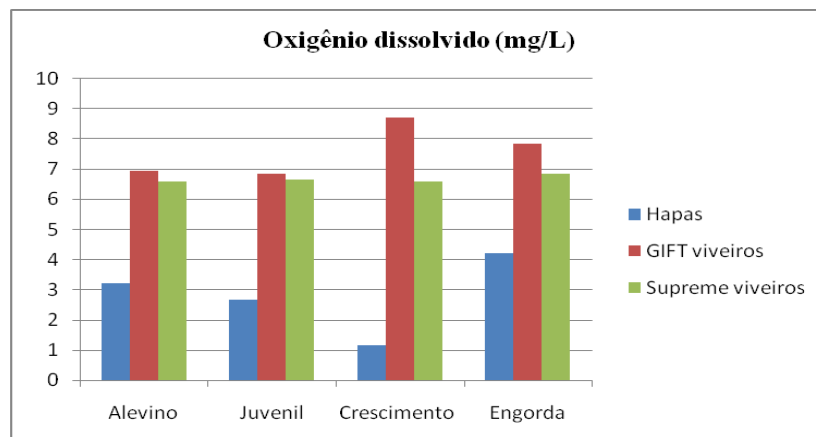
as variedades) com hapas livre de algas, contudo, aparentemente não foi suficiente para evitar o acúmulo em algumas ocasiões.

Figura 4 – Temperatura da água nas fases em cada sistema de cultivo



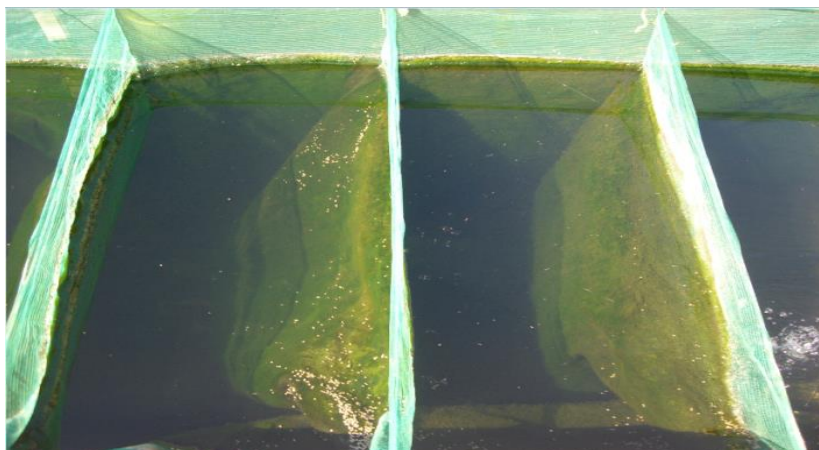
Fonte: O próprio autor

Figura 5 – Níveis de oxigênio dissolvido nas fases em cada sistema de cultivo



Fonte: O próprio autor

Figura 6 – Hapas utilizadas na fase de engorda demonstrando colmatção



Fonte: O próprio autor

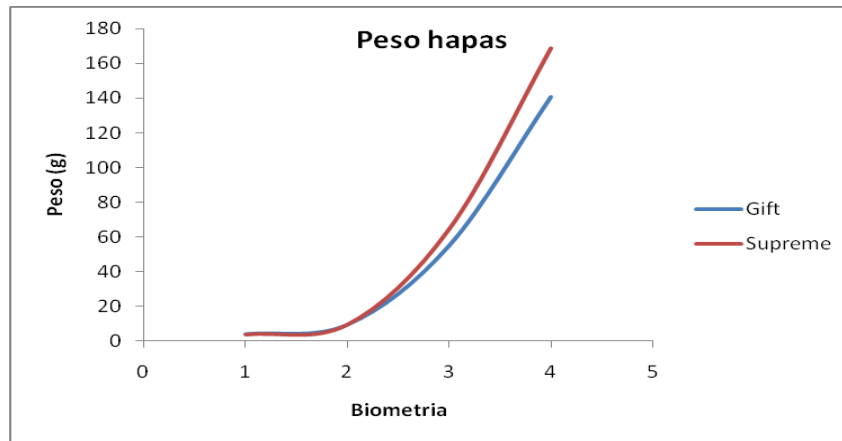
Além disso, para transparência da água expressa em cm, cujos valores variam de acordo com a presença de sólidos em suspensão, matéria orgânica e microrganismos (MORO et al., 2013), como esperado, foram observadas diferenças entre os sistemas. No cultivo em hapas, foi máxima, ou seja, foi possível enxergar o fundo do tanque, devido à ausência de contato da água com o solo. No cultivo em viveiros, oscilou entre 40 a 80 cm no viveiro onde foi cultivada a variedade GIFT e de 40 a 60 cm, no viveiro utilizado para cultivo da variedade Supreme, sendo um indicativo de presença de alimento natural neste sistema. Assim, é possível que estas diferenças na qualidade da água sejam os fatores que influenciaram o desempenho em cada um dos sistemas de forma distinta.

Quanto aos resultados do desempenho foram observados diferentes comportamentos de crescimento entre os parâmetros avaliados, que foram influenciados pela variedade genética, sistema de cultivo, fase de cultivo, bem como pelas interações entre estes fatores.

Os parâmetros peso e altura do corpo apresentaram interação tripla (variedade x sistema de cultivo x biometria) (Apêndice A), e para melhor análise, foi desdobrada a interação variedade x biometria em cada um dos sistemas de cultivo, sendo observada a interação variedade x biometria tanto em hapas quanto em viveiros para ambos os parâmetros.

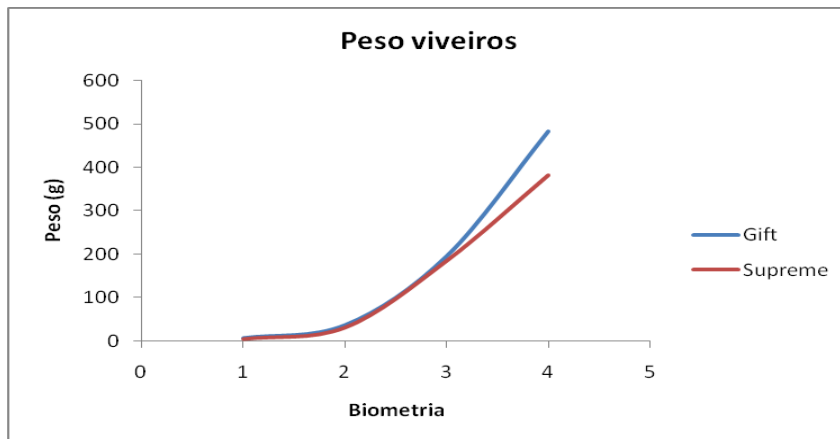
Para peso, no cultivo em hapas (Figura 7), é observado crescimento semelhante entre as variedades no início, passando as duas por maior crescimento após o final da fase de juvenil, quando a Supreme demonstrou maior crescimento. No cultivo em viveiros (Figura 8), foi constatado evidente aumento do crescimento para ambas as variedades a partir da segunda biometria, contudo, após a terceira biometria a GIFT obteve maior crescimento. Contudo, a partir dos resultados das médias para este parâmetro (Apêndice B) é demonstrado que no cultivo em viveiros foram alcançados valores próximos ao peso de mercado (456 g para GIFT e 382 g para Supreme), e contrariamente, no cultivo em hapas, ambas as variedades apresentaram pesos abaixo dos adequados à comercialização (170 g para GIFT e 193 g para Supreme), o que inviabiliza o uso deste sistema com as condições do presente estudo para o cultivo comercial, ao menos para períodos curtos com duração semelhante à empregada no presente estudo. Isso demonstra que os maiores valores obtidos pela variedade Supreme em hapas não apresentam importância, ao menos do ponto de vista produtivo.

Figura 7 – Curvas de crescimento para peso em hapas



Fonte: O próprio autor

Figura 8 – Curvas de crescimento para peso em viveiros escavados

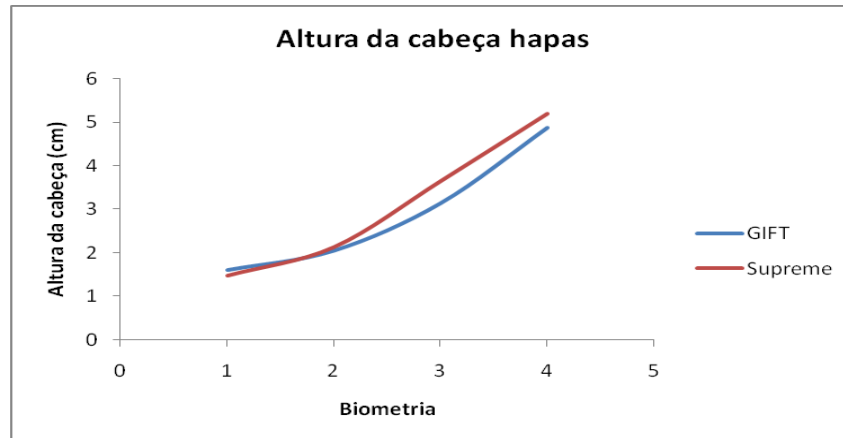


Fonte: O próprio autor

Para altura da cabeça, no cultivo em hapas (Figura 9), foi observado crescimento semelhante de ambas as variedades até a segunda biometria, e maior crescimento da Supreme deste período em diante. Em viveiros (Figura 10), houve maior crescimento da GIFT durante todo período de cultivo. Assim como para o parâmetro peso, foram observados maiores valores para Supreme em hapas e para GIFT em viveiros, e resultados superiores para ambas as variedades em viveiros em relação à hapas. Contudo do ponto de vista produtivo, o maior valor para altura da cabeça não é uma característica positiva, visto que quanto maior a cabeça, menor será o rendimento das partes comestíveis. Além disso, nas médias da proporção da cabeça em relação às partes comestíveis (Tabela 1), que é determinado pela área da cabeça (comprimento x altura) pela área do corpo (comprimento do tronco x altura do corpo), foi evidenciada maior proporção da cabeça na variedade Supreme em todos os sistemas e fases de cultivo, exceto na fase de juvenil em viveiros e de engorda em hapas. Assim, esses dados demonstram que os maiores valores da altura da cabeça para Supreme em

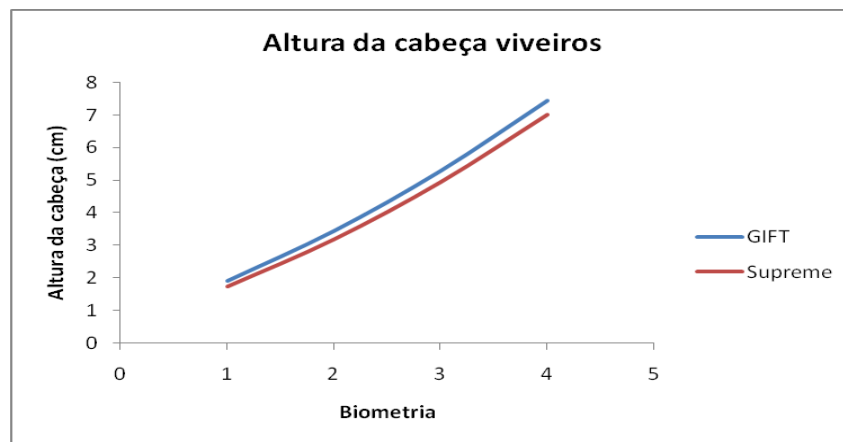
hapas não apresentaram importância do ponto de vista produtivo, além do fato de os resultados de ganho em peso em hapas, como mencionado, estarem abaixo do buscado em termos comerciais, demonstrando a ausência de importância do maior crescimento desta variedade para estes parâmetros no referido sistema.

Figura 9 – Curvas de crescimento para altura da cabeça em hapas



Fonte: O próprio autor

Figura 10 – Curvas de crescimento para altura da cabeça em viveiros escavados



Fonte: O próprio autor

Tabela 1 – Médias da proporção da cabeça em relação às partes comestíveis (%)

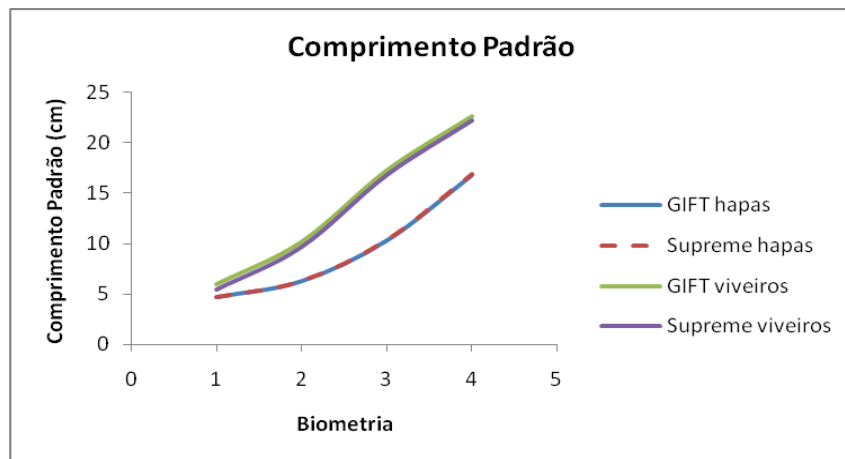
	GH	SH	GV	SV
Alevino	48,7	48,8	44,3	48,3
Juvenil	39,8	41,5	37,5	36,6
Crescimento	37,2	39,0	30,4	33,7
Engorda	36,2	35,3	31,0	32,9

Legenda: GH: GIFT em hapas; SH: Supreme em hapas; GV: GIFT em viveiros; SV: Supreme em viveiros.

Fonte: O próprio autor

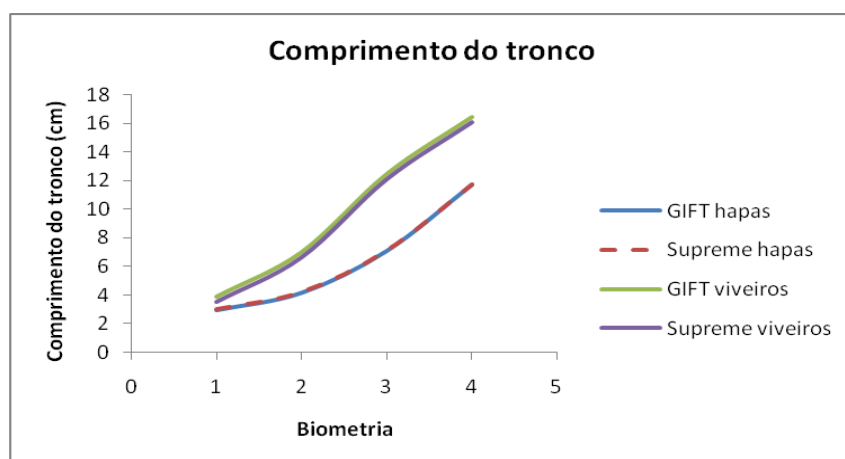
Para ambos os parâmetros comprimento padrão e comprimento de tronco foram constatadas as interações variedade x sistema de cultivo e sistema de cultivo x biometria (Apêndice A), além de demonstrarem padrões semelhantes de crescimento (Figuras 11 e 12). No resultado da comparação das médias na interação variedade x sistema de cultivo (Apêndice D), não foram observadas diferenças entre as variedades quando cultivadas em hapas, contudo a GIFT apresentou melhores resultados em relação à Supreme quando cultivada em viveiros. Além disso, ambas as variedades apresentaram melhores resultados em viveiros, demonstrando ser este sistema mais adequado ao crescimento destes parâmetros.

Figura 11 – Curvas de crescimento para comprimento padrão



Fonte: O próprio autor

Figura 12 – Curvas de crescimento para comprimento do tronco

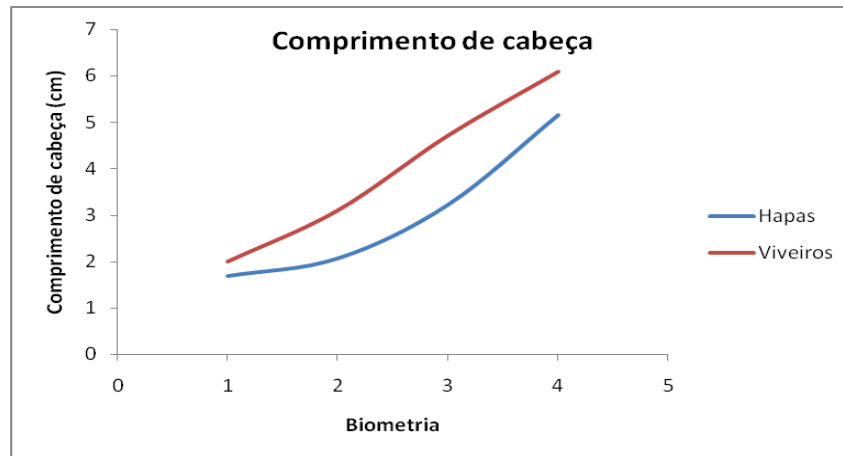


Fonte: O próprio autor

Em relação ao comprimento de cabeça, não foi observada interação do fator variedade com os demais fatores, havendo apenas a interação significativa entre sistema de cultivo x biometria (Apêndice A e Figura 13), demonstrando maior crescimento no cultivo em

viveiros. Assim, é constatado que para esta característica a interação do fator variedade genética com os outros fatores (sistema de cultivo e biometria) não influenciou o crescimento, demonstrando não haver diferenças entre as variedades para este parâmetro.

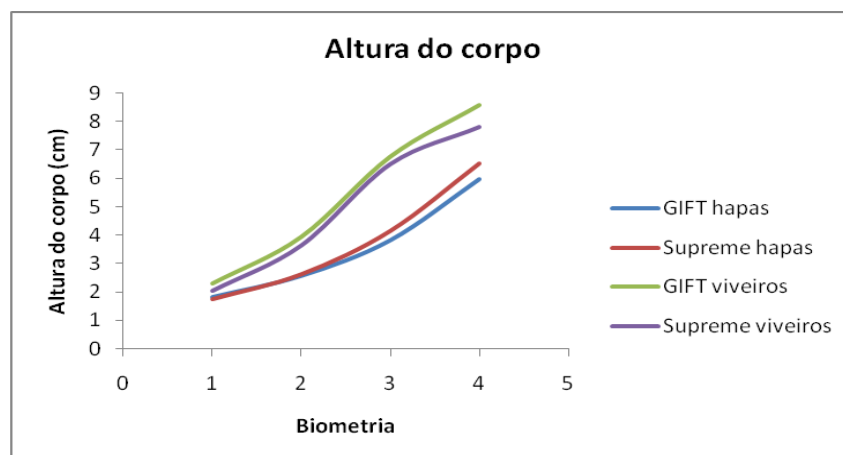
Figura 13 – Curvas de crescimento para comprimento de cabeça



Fonte: O próprio autor

Para altura do corpo, foram observadas as interações variedade x sistema de cultivo, variedade x biometria e sistema de cultivo x biometria (Apêndice A). A interação do fator biometria (fase de cultivo) com os fatores variedade e sistema de cultivo é demonstrado pelos diferentes comportamentos do crescimento das variedades nos sistemas no decorrer do cultivo (Figura 14). Na interação entre variedade x sistema de cultivo (Apêndice D), não foi observada diferença entre as variedades em hapas, contudo, houve diferença no cultivo em viveiros escavados, com melhor desempenho da GIFT, além de ser constatado desempenho superior em viveiros para ambas as variedades quando comparado com o cultivo em hapas.

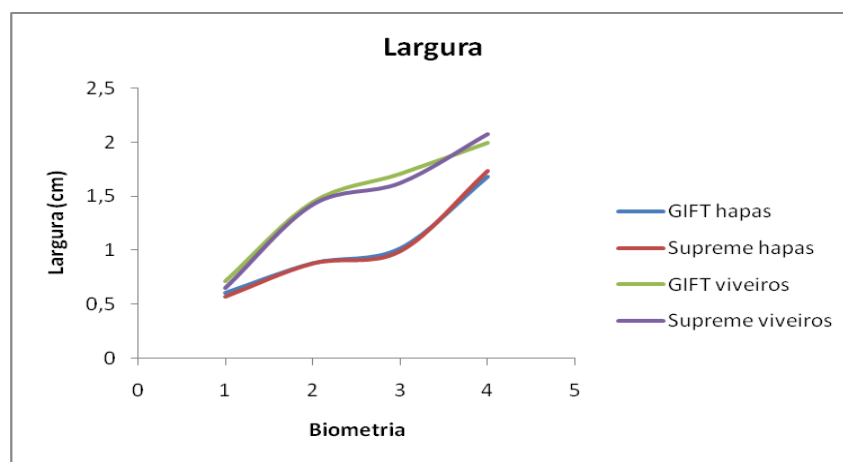
Figura 14 – Curvas de crescimento para altura do corpo



Fonte: O próprio autor

Quanto ao parâmetro largura, foram observadas as interações entre variedade x biometria e sistema x biometria (Apêndice A e Figura 15). No cultivo em hapas, houveram pequenas diferenças entre as variedades, com melhor desempenho da GIFT na fase de alevino e melhor desempenho da Supreme na fase de engorda. Em viveiros, foram observados resultados semelhantes até o final da fase de juvenil, a partir de quando a GIFT apresentou melhores resultados, sendo que do decorrer até o final da fase de engorda, a Supreme apresentou maior crescimento.

Figura 15 – Curvas de crescimento para largura



Fonte: O próprio autor

Com base nestes dados, é observado que para peso, altura da cabeça, altura do corpo e largura, houve a interação variedade x biometria, ou seja, o crescimento variou entre as variedades no decorrer das fases de cultivo, que indica diferenças no comportamento de crescimento para estes parâmetros entre as variedades. Essas diferenças foram mais evidentes a partir das fases de juvenil ou crescimento dependendo do parâmetro, o que provavelmente ocorreu devido ao crescimento mais intenso ocorrido após estes períodos. Diferentes padrões de desenvolvimento de partes corporais no decorrer do crescimento entre variedades de tilápia do Nilo também foram encontrados por Santos et al. (2006), que ao avaliarem o padrão de crescimento de diferentes partes do corpo em relação ao peso corporal, observaram para variedade Supreme, crescimento isogônico (igual ao peso corporal), isogônico e tardio, respectivamente para carcaça, pele e filé, sendo que para a Chitralada houve crescimento precoce, tardio e isogônico, para as mesmas partes corporais. Poggere (2009) encontrou crescimento em comprimento mais rápido para a variedade Supreme em relação à Chitralada e a Bouaké. No entanto, a variedade Chitralada atingiu maior comprimento que a Supreme e a Bouaké, sendo que esta última apresentou menores valores

em relação às demais. Essas diferenças de crescimento das partes do corpo entre as variedades podem ter ocorrido por meio das diferentes condições e manejos que cada uma foi submetida durante o processo de seleção.

Pode ser observado nas médias dos parâmetros (Apêndices B e C) e por meio das curvas de crescimento, que houve melhor desempenho no cultivo em viveiros em relação ao cultivo em hapas para todos os parâmetros avaliados em ambas as variedades. Além disso, adicionalmente, no cultivo em viveiros foram obtidos pesos finais e ganhos em peso (GP) próximos aos exigidos em termos comerciais (Apêndice E), e em contrapartida, em hapas os valores encontrados estiveram abaixo dos adequados do ponto de vista comercial.

Estas diferenças podem ter ocorrido devido à diferença de temperatura e OD entre os sistemas, com valores abaixo do exigido para o crescimento de tilápias no cultivo em hapas. Além disso, a transparência máxima que demonstra a ausência ou baixa disponibilidade de alimento natural, também encontrada neste sistema, pode também ter influenciado negativamente o desempenho.

A influência da baixa temperatura sobre o desempenho tem sido evidenciada em alguns estudos, entre eles o realizado por El-Sayed e Kawanna (2008), que ao avaliarem o desempenho de alevinos de tilápia cultivados em sistema de recirculação sob diferentes temperaturas, encontraram menores pesos finais e pior conversão alimentar para aqueles cultivados em temperaturas de 24°C, em relação aos cultivados a 26°C, 28°C e 30°C. Adicionalmente, Justí et al. (2005), ao avaliarem o desempenho de alevinos de *O. niloticus* sob diferentes temperaturas, observaram menores pesos médios para peixes cultivados a 23°C, quando comparados aos indivíduos cultivados a 26, 29 e 32°C. As temperaturas baixas utilizadas por estes autores são semelhantes às encontradas no cultivo em hapas durante todo o experimento, sendo este um dos prováveis fatores que proporcionaram o pior desempenho. Isso pode ter ocorrido pelo fato de baixas temperaturas ocasionarem a diminuição de consumo em tilápias do Nilo, o que concorda com o observado por Azaza, Dhtaief e Kraïem (2008), que encontraram o menor consumo em peixes cultivados temperatura de 22°C relacionado ao pior desempenho, quando comparado a temperaturas superiores. Isso demonstra que possivelmente as baixas temperaturas tenham sido um dos fatores que determinaram o pior desempenho em hapas. Além disso, em viveiros também pode ter ocorrido a restrição causada por este fator, visto que foi evidenciada temperatura de aproximadamente 19°C para ambas as variedades na fase de engorda, e mesmo tendo sido observado maior crescimento para todos os parâmetros em relação ao cultivos em hapas, é possível que o desempenho tivesse sido

superior em caso de ocorrência de temperaturas adequadas durante esta fase no cultivo em viveiros.

Outro aspecto encontrado no cultivo em hapas que pode ter afetado os resultados, são os baixos níveis de OD, visto que este fator influencia negativamente o desempenho de peixes, por ocasionar em queda de consumo de alimento (TORRANS, 2005), além da conseqüente piora na conversão alimentar (POPOUTSOGLOU; TZIHA, 1996; GAN et al., 2013) e em decorrência disso, na redução do crescimento (BEDJA; PHELAN; STUDHOLME, 1992). Os motivos do baixo desempenho nestas condições foram constatados por Fernandes e Rantin (1994), que ao avaliarem tilápias do Nilo aclimatadas em concentrações adequadas de oxigênio, quando mantidas em condição de baixo oxigênio (hipoxia), observaram aumento da ventilação branquial e da frequência e volume respiratório, e propuseram que em condição de baixo oxigênio por longos períodos, as tilápias direcionariam energia para a atividade respiratória, ocasionando em baixo crescimento e desempenho. Em estudo realizado por Tran-Duy et al. (2008) com tilápia do Nilo, foi observado menor consumo de alimento e pior desempenho para peixes de diferentes tamanhos mantidos em condições de baixo OD (2,78 mg/L para peixes pequenos e 3,19 mg/L para peixes grandes), quando comparados com indivíduos mantidos em ambientes com níveis adequados de OD (5,46 mg/L para pequenos e 5,81 mg/L para grandes). No presente trabalho, apesar de não ter sido avaliado o consumo de ração, há a possibilidade de que o menor nível de OD encontrado no cultivo em hapas pode ter sido um dos principais fatores que ocasionou o pior desempenho, concordando com os fatos acima mencionados.

A disponibilidade de alimento natural no cultivo em viveiros pode ser um dos fatores que promoveram o melhor desempenho neste sistema quando comparado com o cultivo em hapas em tanques de concreto, podendo ser evidenciada nos resultados obtidos para o parâmetro de transparência da água. Mesmo para tilápias alimentadas com dietas balanceadas, quando cultivadas em viveiros escavados, este tipo de alimento pode representar grande proporção do alimento total ingerido (ROCHA LOURES et al., 2001; BEYRUTH et al., 2004). O aproveitamento desse alimento é possível devido ao hábito natural de alimentação da tilápia, que tem a capacidade de aproveitar diversos tipos de alimento como algas, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, microrganismos e detritos (WATANABE et al., 2002), gerando a possibilidade de um cultivo menos oneroso em viveiros escavados. Os hábitos alimentares se modificam no decorrer da vida, passando de uma preferência por alimentos de origem animal e zooplâncton nas fases iniciais, para uma alimentação baseada em alimentos vegetais na fase adulta, principalmente fitoplâncton (MOREIRA et al., 2012;

ENGDAW; DADEBO; NAGAPPAN, 2013). Concordando com o encontrado no presente estudo, Abou et al. (2013), obtiveram maiores pesos finais para *O. niloticus* cultivados em viveiros escavados, quando comparados com indivíduos cultivados em tanques de concreto, quando ambos os grupos foram alimentados com as mesmas rações. Trabalhando com carpa ornamental Koi (*Cyprinus carpio*), uma espécie também capaz de aproveitar a produção natural do viveiro, sob diferentes regimes alimentares cultivadas em tanques de concreto e viveiros escavados, Jha, Barat e Nayak (2006), observaram que independente do regime alimentar, os peixes cultivados em viveiros apresentaram melhores ganhos de peso e sobrevivência. Dessa forma, há a possibilidade deste fator nutricional e a melhor qualidade da água terem influenciado o melhor desempenho de ambas as variedades no cultivo em viveiros.

Esta condição de restrição do crescimento observada no cultivo em hapas do presente estudo também ocorre em produções comerciais, sendo neste caso causada muitas vezes por intempéries climáticas, como por exemplo, as baixas temperaturas que ocorrem no inverno na maioria das regiões do Brasil. Neste tipo de situação, pode ser utilizada a estratégia de ganho compensatório, que consiste na recuperação do crescimento por meio da promoção de melhores condições ambientais e/ou nutricionais. Assim, para os peixes cultivados em hapas no presente estudo, caso fossem proporcionadas melhores condições, há a possibilidade da ocorrência desta compensação no crescimento. Contudo, os resultados obtidos não permitem essa afirmação, sendo necessários estudos adicionais para averiguar se o menor crescimento proporcionado por estas restrições é possível de ser revertido, mesmo após longos períodos, visto que neste experimento os peixes foram submetidos a tais condições por 204 dias.

Além disso, como observado, houve melhor desempenho da variedade GIFT em viveiros para os parâmetros de comprimento padrão, comprimento de tronco e altura do corpo, características relacionadas ao aumento da massa corporal, sendo as duas últimas ligadas à conformação do filé (BOSCOLO et al., 2001), e por isso, de extrema importância. Além disso, nos resultados de ganho em peso e ganho em peso diário (Apêndice E), como acima mencionado, foi constatado que a variedade GIFT no referido sistema obteve valores superiores, com maiores ganhos durante todas as fases, além de ter apresentado o maior peso final, sendo o mais próximo dos valores comerciais entre os grupos avaliados. Resultados superiores da variedade GIFT em relação a outras variedades em viveiros, foi observado por Fülber et al. (2010), que encontraram melhor desempenho desta variedade para ganho em peso, comprimento total, altura, largura e peso final, em relação à Bouaké e Chitralada.

Estes resultados possivelmente estão relacionados à maior capacidade desta variedade em aproveitar as condições presentes neste tipo de cultivo, em relação à Supreme. Isso pode ocorrer devido ao fato da seleção no projeto GIFT ter sido realizado em ambientes distintos, entre eles, viveiros escavados, visto que o foco deste era atender principalmente a produção em viveiros (BENTSEN et al., 2012), o que proporcionou resultados adequados em diversos sistemas que apresentem condições ambientais semelhantes à este sistema. Contudo, a Supreme também provém deste programa de melhoramento, e dessa forma, o maior potencial da variedade GIFT em viveiros deve ser resultados da seleção realizada após a separação de ambas as variedades em 1999. Como comentado, os peixes utilizados neste experimento foram obtidos da 5ª geração do programa de melhoramento realizado no Brasil pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). De acordo com Santos (2009), ao menos até a segunda geração, foram cultivados e reproduzidos em viveiros escavados.

No entanto, o melhor resultado da GIFT em viveiros em relação à hapas no presente trabalho pode estar relacionado às condições favoráveis neste cultivo. Santos (2009) encontrou maior herdabilidade para peso corporal em tanques rede em relação à encontrada em viveiros escavados, o que segundo o autor, pode ter ocorrido devido às melhores condições neste sistema, em especial o nível de aeração e a dieta de melhor qualidade empregada, sugerindo que a expressão do potencial genético para esta característica nesta variedade é influenciada por estes fatores. Possivelmente, foi o que aconteceu no presente estudo, visto que como mencionado, o cultivo em viveiros proporcionou melhores condições ambientais em relação ao cultivo em hapas. Contudo, em relação à restrição ocasionada pela baixa temperatura, aparentemente esta não apresentou grande efeito sobre a GIFT, visto que em viveiros mesmo com temperatura de 19°C na fase de engorda, fase com maior duração (91 dias) e maior intensidade de crescimento, esta variedade apresentou desempenho satisfatório, que pode ser constatado pelos resultados de ganho em peso e crescimento para outros parâmetros durante esta fase, sendo superior à Supreme.

Outro ponto a ser levado em consideração são os maiores valores para peso e altura da cabeça da Supreme em hapas, após as fases de crescimento e alevinos, respectivamente. Este maior crescimento pode ter ocorrido devido à maior tolerância desta variedade aos baixos níveis de OD. Charo-Karisa et al. (2006), encontraram diferenças de desempenho em *O. niloticus* cultivados em diferentes viveiros, o que possivelmente ocorreu em decorrência de diferenças nos níveis de OD, e devido à constatação da ocorrência da interação genótipo x ambiente (GXA) e ao fato de indivíduos de uma mesma família apresentarem diferenças de desempenho, os autores sugeriram haver genótipos com maior

tolerância para restrição de OD. Assim, é possível que o maior crescimento da Supreme em hapas no presente estudo, para os parâmetros peso e altura da cabeça, se deva ao fato desta variedade apresentar maior tolerância a baixos níveis disponíveis deste elemento.

A maior tolerância às baixas temperaturas, possivelmente não foi um dos fatores responsáveis pelo maior crescimento da Supreme em hapas, visto que a variedade GIFT em viveiros durante a fase de engorda apresentou resultados satisfatórios e superiores à Supreme, mesmo sob baixas temperaturas. A diferença de tolerância à baixa temperatura entre estas variedades não foi observada por Santos, Mareco e Dal-Pai Silva (2013), que não encontraram diferenças de ganho em peso entre GIFT e Supreme quando cultivadas a 22°C. Contrariamente, no presente estudo, os melhores resultados da GIFT em viveiros sob baixas temperaturas podem ser indicativos de maior tolerância desta variedade a este fator.

Contudo, o maior crescimento da Supreme em hapas não é relevante, visto que neste sistema o peso obtido esteve abaixo do peso comercial, e a maior altura da cabeça não apresenta importância em termos produtivos.

Conclusão

Os resultados encontrados demonstram que o cultivo em viveiros escavados proporcionou melhores desempenhos, devido a apresentar condições mais favoráveis ao desenvolvimento da tilápia do Nilo, onde foi observada maior desempenho da variedade GIFT para alguns parâmetros em relação à variedade Supreme. Em contraste, no cultivo em hapas, houve maior crescimento da Supreme para alguns parâmetros, contudo, sem apresentar relevância em termos produtivos.

Referências

ABOU, Y.; AINA, M. P.; FIOGBÉ, E. D.; MICHA, J. Growth and fatty acid composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. fed *Azolla*-diets, in tanks and in earthen ponds: A comparative study. **Natural Science**, Irvine, v. 5, n.1, p. 77-83, jan., 2013.

ALMEIDA, D. B. **Avaliações reprodutivas em três linhagens de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Brasil**. 2012. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

AZAZA, M. S.; DHRAÏEF, M. N.; KRAÏEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 98-105, fev., 2008.

- BEJDA, A. J.; PHELAN, B. A.; STUDHOLME, A. L. The effect of dissolved oxygen on the growth of young-of-the-year winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, v. 34, n. 3, p. 321-327, jul., 1992.
- BENTSEN, H. B.; GJERDE, B.; NGUYEN, N. H.; RYE, M.; PONZONI, R. W.; PALADA DE VERA, M. S.; BOLIVAR, H. L.; VELASCO, R. R.; DANTING, J. C.; DIONISIO, E. E.; LANGALONG, F. M.; REYES, R. A.; ABELLA, T. A.; TAYAMEN, M. M.; EKNATH, A. E. Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 338-341, p.56-65, mar., 2012.
- BEYRUTH, Z.; MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FUSCO, S. M.; FARIA, F. C.; SILVA, A. L. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçoamento. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 30, n.1, p.9-24, jul., 2004.
- BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e Características de Carcaça de Machos Revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagens Tailandesa e Comum, nas Fases Inicial e de Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n.5, p.1391-1396, set./out., 2001.
- CHARO-KARISA, H.; KOMEN, H.; REYNOLDS, S.; REZK, M. A.; PONZONI, R. W.; BOVENHUIS, H. Genetic and environmental factors affecting growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles: Modelling spatial correlations between hapas. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 255, n. 2-4, p. 586-596, maio, 2006.
- EL-SAYED, A. M.; KAWANNA, M. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 670-672, abr., 2008.
- ENGDAW, F.; DADEBO, E.; NAGAPPAN, R. Morphometric Relationships and Feeding Habits of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) (Pisces: Cichlidae) From Lake Koka, Ethiopia. **International Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Faisalabad, v. 2, n.4, p. 65-71, nov., 2013.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics**, 2012. Roma: FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. 105 p.
- FERNANDES, M. N.; RANTIN, F. T. Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 127, n. 4, p. 339-346, nov., 1994.
- FÜLBER, V. M.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L. D.; BRACCINI, G. L.; MARENGONI, N. G.; GODOY, L. C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.32, n.1, p.77-83, jan./mar., 2010.
- GAN, L.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; YUE, Y.-R.; YANG, H.-J.; LIU, F.-J.; CHEN, Y.-J.; LIANG, G.-Y. Effects of dissolved oxygen and dietary lysine levels on growth performance,

feed conversion ratio and body composition of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 860-869, dez., 2013.

JHA, P.; BARAT, S.; NAYAK, C. R. A comparison of growth, survival rate and number of marketable koi carp produced under different management regimes in earthen ponds and concrete tanks. **Aquaculture International**, Londres, v. 14, n.6, p. 615-626, dez., 2006.

JUSTI, K. C.; PADRE, R. G.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Efeito da temperatura da água sobre desempenho e perfil de ácidos graxos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, n.4, out./dez., 2005.

KUBTIZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí: F. Kubtiza, 2011. 316 p.

LIKONGWE, J. S.; STECKO, T. D.; STAUFER JR.; J. R.; CARLINE, R. F. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 1-2, p.37-46, out., 1996.

LUPCHINSKI JÚNIOR, E.; VARGAS, L.; POVH J. A.; RIBEIRO, R. P.; MANGOLIN, C. A.; LOPERA BARRERO, N. M. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 233-240, abr./jun., 2008.

MASSAGO, H.; CASTAGNOLLI, N.; MALHEIROS, E. B.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; SANTOS, M. A.; RIBEIRO, R. P. Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias Ambientais**, São José dos Pinhais, v. 8, n. 4, p. 397-403, out./dez., 2010.

MELO, C. C. V. **Efeitos diretos e indiretos das medidas e razões morfométricas sobre os rendimentos corporais da tilápia do Nilo**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2012.

MOREIRA, R. L.; SILVEIRA, L. P.; TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOURA, P. S.; FARIAS, W. R. L. Growth and gastrointestinal indices in Nile tilapia fed with different diets. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 223-229, jan./mar., 2012.

MORO, G. V.; TORATI, L. S.; LUIZ, D. B.; MATOS, F. T. Monitoramento e manejo da qualidade da água em pisciculturas. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2013. p. 141-169.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011**. Brasília: MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura, 2013, 60 p.

NAKAMURA, K. K. **Efeito do cultivo em hapas e viveiros escavados na biometria e análise genética de linhagens de tilápia do Nilo**. 2013. Trabalho de Estágio Curricular (Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2013.

NEVES, P. R.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; NATALI, M. R. M.; MAEHANA, K. R.; MARENGONI, N. G. Evaluation of the Performance of Two Strains of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) In Mixed Raising Systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.51, n.3: p.531-538, maio/jun., 2008.

OLIVEIRA, S. N.; RIBEIRO, R. P.; LOPERA, N. M.; CANDIOTO, F. B.; RESENDE, E. K.; LEGAT, A. P. Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 207-212, abr./jun., 2011.

OLIVEIRA, A. M. S. **Curvas de crescimento de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2013. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Unidade Universitária de Aquidauana, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana. 2013.

PETERSEN, R. L.; GARCIA, J. E.; MELLO, G.; LIEDKE, M. R.; SINCERO, T. C. M.; GRISARD, E. C. Análise da diversidade genética de tilápias cultivadas no estado de Santa Catarina (Brasil) utilizando marcadores microsatélites. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 38, n.4, p.313-321, out./dez., 2012.

POGGERE, P. R. **Avaliação do desempenho produtivo e rendimento de filé de três linhagens de Tilápia (*Oreochromis niloticus*): Supreme, Chitralada e Bouaké**. 2009. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2009.

POPOUTSOGLOU; S. E.; TZIHA, G. Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentrations under recirculated conditions. **Aquacultural Engineering**, Londres, v. 15, n. 3, p. 181-192, maio, 1996.

ROCHA LOURES, B. T. R.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; MOREIRA, H. L. M.; SUSSEL, F. R.; POVH, J. A.; CAVICHIOLO, F. Manejo alimentar de alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), associado às variáveis físicas, químicas e biológicas do ambiente. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 877-883, out./dez., 2001.

ROMANA-EGUIA, M. R. R.; DOYLEB, R. W. Genotype-environment interaction in the response of three strains of Nile tilapia to poor nutrition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 108, n. 1-2, p. 1-12, nov., 1992.

SANTOS, V. B.; FREATO, T. A.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V. R. Crescimento relativo e coeficientes alométricos de componentes do corpo de linhagens de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 357-364, out./dez., 2006.

SANTOS, A. I. **Interação genótipo-ambiente e estimativas de parâmetros genéticos em tilápias**. 2009. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SANTOS, V. B.; MARECO, E. A.; DAL PAI SILVA, M. Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 235-242, jul./set., 2013.

TORRANS, E. L. Effect of oxygen management on culture performance of Channel Catfish in earthen ponds. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 67, n. 4, p. 275-288, 2005.

TRAN-DUY, A.; SCHRAMA, J. W.; VAN DAM, A. A.; VERRETH, J. A. J. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, n. 1-4, p. 152-162, mar., 2008.

VIEIRA, V. P.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; LOPERA BARRERO, N. M. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em Maringá- PR. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 3, n.3, p. 19-26, jul./ago., 2005.

WATANABE, W. O.; LOSORDO, T. M.; FILTZSIMMONS, K.; HANLEY, F. Tilapia production systems in Americas: technological advances, trends and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n.3-4, p. 465-498, 2002.

YI, Y. Modeling growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a cage-cum-pond integrated culture system. **Aquacultural Engineering**, v. 21, n. 2, p. 113-133, dez., 1999.

ZIMMERMANN, S. Um moderno instrumental genético no melhoramento e na rastreabilidade de tilápias nilóticas. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 76, p. 69, mar./abr. 2003.

5 ARTIGO B

MORFOLOGIA E EXPRESSÃO GÊNICA MUSCULAR DE TILÁPIAS DO NILO DAS VARIEDADES GIFT E SUPREME CRIADAS EM DOIS SISTEMAS DE CULTIVO

MORPHOLOGY AND MUSCLE GENE EXPRESSION OF NILE TILAPIAS FROM GIFT AND SUPREME VARIETIES FARMED IN TWO GROWING SYSTEMS

RESUMO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixes cultivadas mais promissoras, e assim como para outras espécies, uma das características mais importantes é o crescimento da musculatura esquelética, sendo o músculo branco o mais importante do ponto de vista produtivo, representando grande parte da musculatura total. O crescimento deste tecido na maioria dos peixes ocorre pelos processos de hiperplasia, com aumento do número de fibras, e hipertrofia, com aumento do diâmetro das fibras, sendo a contribuição relativa de cada um destes mecanismos influenciada por diversos fatores, tanto endógenos quanto ambientais. Além disso, há o controle por fatores de crescimento, entre estes, a miostatina, que age inibindo o crescimento. A partir destas evidências, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos cultivos em hapas alocadas em tanques de concreto e do cultivo em viveiros escavados sobre a distribuição dos diâmetros das fibras musculares brancas e expressão gênica da miostatina nas variedades GIFT e Supreme. Para isso, peixes de ambas as variedades foram cultivadas por um período total de 204 dias, que foi dividido nas fases de alevino, juvenil, crescimento e engorda. Em cada fase, foram realizadas coletas de músculo branco da região mediana. Para análise histológica foram coletadas amostras de cinco peixes de cada variedade em cada sistema por fase. Destas, foram feitas lâminas coradas com hematoxilina eosina, das quais foram mensuradas as áreas de 100 fibras por peixe com uso de um programa de análise de imagens, sendo o valor obtido utilizado na fórmula $D = 2A^{0,5} \cdot \pi^{-0,5}$, para cálculo do diâmetro das fibras, que foram classificadas em duas classes representando hiperplasia ($< 20\mu\text{m}$ e entre $20\text{-}30\mu\text{m}$), e duas representando hipertrofia (entre $30\text{-}50\mu\text{m}$ e $>50\mu\text{m}$). Para análise de expressão gênica foram coletadas amostras de músculo de peixes de ambos os sistemas e variedades, apenas nas fases de crescimento e engorda. Com estas amostras foi realizada reação de transcrição reversa seguida por PCR em tempo real, e os resultados analisados em delineamento inteiramente casualizado em fatorial $2 \times 2 \times 2$ (dois sistemas, duas variedades e duas fases de cultivo), com realização de análise de variância e teste de Tukey a 5%. Ocorreu no decorrer do período experimental, diminuição crescente de fibras representando a hiperplasia, e consequente aumento de fibras representando a hipertrofia. Foi observada maior contribuição do crescimento hipertrófico em viveiros em relação à hapas, com maior proporção de hipertrofia na GIFT em relação à Supreme. Na análise genética, foi observada maior expressão da miostatina na fase de crescimento em peixes cultivados em viveiros em relação aos cultivados em hapas, sugerindo que estes níveis estejam relacionados com a maior proporção de hipertrofia encontrada neste sistema, o que pode ter ocorrido para controlar o intenso crescimento. Assim, os resultados de ambas as análises apresentam concordância, demonstrando o maior potencial de crescimento muscular

no cultivo em viveiros, com a variedade GIFT apresentando maior crescimento neste sistema, possivelmente, devido a ser mais apta a aproveitar as condições existentes.

Palavras-chave: Efeito ambiental. Hiperplasia muscular. Hipertrofia muscular. Influência genética. Piscicultura.

ABSTRACT

The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of most promising farmed fish species, and as well as for other species, one of the most important features is the skeletal muscle growth, being the white muscle the most important from the productive point of view, representing a large part of the total muscle. The growth of this tissue in most fish occurs by the processes of hyperplasia, with an increase of fibers number, and hypertrophy, with increase of fibers diameter, being the relative contribution of each of these mechanisms influenced by several factors, both endogenous and environmental. In addition, there is the control of growth factors, among them, the myostatin that inhibits growth. From this evidence, this study aimed to evaluate the influence of the rearing in hapas allocated in concrete tanks and of the rearing in earthen ponds on the distribution of white muscle fibers diameters and myostatin gene expression in GIFT and Supreme varieties. For this, fish from both varieties were reared for a total period of 204 days that was divided in fry, juvenile growth and fattening stages. At each stage, were performed collections of white muscle from the middle region. For histological analysis, samples were collected from five fish of each variety in each system per stage. From these, were made slides stained with hematoxylin eosin, from which were measured areas of 100 fibers per fish with use of an image analysis program, being the obtained value used in the formula $D = 2A^{0.5} \pi^{0.5}$, to calculate the diameter of the fibers, which was classified in two classes representing hyperplasia (<20 μm and 20-30 μm), and two representing hypertrophy (30-50 μm and > 50 μm). For gene expression analysis fish muscle samples were collected from both systems and varieties only in growing and fattening stages. With these samples was performed reverse transcription reaction followed by real time PCR, and the results analyzed in a completely randomized design in a factorial 2 x 2 x 2 (two systems, two varieties and two rearing stages), with performing analysis of variance and Tukey test at 5%. Occurred during the trial period, increasing reduction of fibers representing hyperplasia, and consequent increase of fibers representing hypertrophy. It was observed higher contribution of hypertrophic growth in ponds relative to hapas, with a higher proportion of hypertrophy in GIFT relative to Supreme in this system. In genetic analysis, was observed higher expression of myostatin in the growth stage in fish grown in ponds compared to those grown in hapas, suggesting that these levels are associated with the higher proportion of hypertrophy found in this system, which may have occurred to control the intense growth. Thus, the results of both analyzes present agreement, showing the greatest potential for muscle growth in rearing in ponds, with GIFT variety showing higher growth in this system, possibly due to be more able to take advantage of the conditions.

Key words: Fish farming. Muscle hyperplasia. Muscle hypertrophy. Environmental effect. Genetic influences.

Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixe cultivadas mais produzidas mundialmente. No Brasil, no ano de 2011, obteve a maior produção entre todas as espécies, com 253.824,1 toneladas produzidas (MPA, 2013). Entre suas principais características, possui hábito alimentar onívoro e capacidade filtradora, fácil reprodução, carne de cor branca e boa qualidade, além de ser adaptável a diversos sistemas de cultivo (RODRIGUEZ RODRIGUEZ, 2014), sendo estes os principais fatores que geraram sua popularidade. Para a tilápia, assim como para as demais espécies cultivadas, um dos aspectos mais importantes é o crescimento da musculatura estriada esquelética.

Esse tipo de músculo constitui de 40 a 75% da massa corporal total em peixes (CARANI et al., 2008), sendo por isso de grande importância do ponto de vista produtivo. Este tecido é composto pelas fibras vermelhas, intermediárias e brancas (AGUIAR et al., 2005), que são classificadas de acordo com sua velocidade de contração, rápida ou lenta; e sua atividade metabólica, aeróbica/oxidativa ou anaeróbica/glicolítica (MARECO, 2012). Destes, o tecido muscular branco, localizado mais profundamente, com fibras maiores que os demais tecidos e baixos níveis de mioglobina (AGUIAR et al., 2005), é o de maior importância, representando mais de 90% da musculatura estriada esquelética na maioria dos peixes teleósteos (ALAMI-DURANTE et al., 2010a), sendo assim, a principal parte comestível do músculo dos peixes, com suas fibras apresentando metabolismo anaeróbico, estando envolvidas em atividades de alta velocidade (JOHNSTON, 1999).

Quanto ao crescimento muscular, este processo ocorre basicamente através de populações de células precursoras, os mioblastos (NACHTIGALL, 2012). Estes são originados na fase embrionária e ao se fundirem, geram os miotubos multinucleados, que após maturação formam as miofibras, responsáveis pela síntese e acúmulo de proteína, mantendo a formação de outras miofibras. Em grande parte dos peixes o crescimento muscular é indeterminado, ocorrendo pelos processos de hiperplasia e hipertrofia, que são responsáveis por todo crescimento pós embrionário da musculatura estriada (RODRIGUEZ RODRIGUEZ, 2014), sendo que o primeiro ocorre pelo recrutamento de novas fibras musculares e o segundo pelo crescimento de fibras já existentes (ALAMI-DURANTE et al., 2010b).

De uma forma geral o crescimento por hiperplasia em peixes é mais pronunciado durante as fases iniciais, dando espaço para a maior contribuição do crescimento hipertrófico nas fases posteriores de crescimento (AGUIAR et al., 2008; ALMEIDA et al., 2008). A contribuição de cada um destes tipos de crescimento acarreta em alterações da

distribuição do tamanho das fibras musculares (ALAMI-DURANTE et al., 2010a), proporcionando diferentes tamanhos de fibras. Esta distribuição em diferentes tamanhos de fibras é coletivamente denominada celularidade muscular (STOIBER et al., 2002), que é geralmente utilizada como indicativo da alteração no equilíbrio entre os mecanismos de hiperplasia e hipertrofia.

Do ponto de vista produtivo, o principal interesse em relação ao crescimento muscular esta na variação dos diâmetros das fibras que ocorre devido à influência genética e ambiental (JOHNSTON, 1999). Neste contexto, têm sido relatadas diferenças no padrão de distribuição das fibras musculares entre diferentes variedades (VALENTE et al., 1999; PERIAGO et al., 2005), além da influência de diversos fatores ambientais, entre eles, a temperatura (STOIBER et al., 2002; PAULA et al., 2014; LOHNE et al., 2012), disponibilidade de oxigênio (MATSCHAK et al., 1997; MATSCHAK et al., 1998), fotoperíodo (LOHNE et al., 2012) e composição da dieta (ALAMI-DURANTE et al., 2010 a,b; KAMASZEWSKI et al., 2014). Outro fator que afeta a celularidade muscular em peixes é a fase de crescimento, visto que de uma forma geral, a frequência de fibras com diâmetros menores é maior nas fases iniciais, dando espaço para maior frequência de fibras com diâmetros maiores na fase adulta (DAL PAI-SILVA et al., 2003, AGUIAR et al., 2008; ALMEIDA et al., 2008). Por isso, devido à grande diversidade de fatores, é necessário entender quais deles influenciam as diferenças na distribuição das fibras, de forma a utilizar variedades e sistemas de cultivo que propiciem crescimento muscular adequado.

Tanto a hiperplasia quanto a hipertrofia são reguladas positivamente pela expressão dos fatores reguladores da miogênese (do inglês, MRFs): myoD, myf5, miogenina e mrf4 (CARANI et al., 2013), sendo os dois primeiros necessários na proliferação das células precursoras miogênicas, e os outros dois na diferenciação e especificação dos mioblastos (RESCAN, 2001; JOHANSEN.; OVERTURF, 2006). Outro fator de destaque é a miostatina, composto que faz parte da superfamília *TGF- β* (Transforming Growth Factors β), grupo de substâncias que regulam negativamente o crescimento muscular (SEILIEZ; SABIN, GABILLARD, 2012). O papel da miostatina na musculatura estriada esquelética é controlar a proliferação e diferenciação dos mioblastos, por meio da inibição da atividade das MRFs (LANGLEY et al, 2002; SEILIEZ; SABIN, GABILLARD, 2012). Este fator de crescimento é sintetizado no músculo esquelético em sua forma precursora, e após processo proteolítico é gerado um homodímero na extremidade C, que é sua molécula biologicamente ativa (CHISADA et al., 2011). Contudo, nos peixes teleósteos, diferentemente dos mamíferos, a miostatina não apresenta um único gene, havendo ao menos dois parálogos, MSTN-1 e

MSTN-2, além de não estar restrita ao tecido muscular, possuindo outras funções em diversos tecidos (SANTIS; GOMES; JERRY, 2012)

Estudos avaliando a supressão da atividade da miostatina em algumas espécies de peixes têm demonstrado a formação de musculatura dupla ou apenas aumento expressivo da massa muscular (CHISADA et al., 2011; LEE et al., 2009; XU et al., 2003; ACOSTA et al., 2005; LEE et al., 2010), sendo que o resultado depende do nível de inibição obtido. No entanto, apesar de divergências de resultados, estes fatos vêm confirmando a atividade inibitória da miostatina no crescimento do músculo esquelético em peixes, através da inibição da proliferação e diferenciação dos mioblastos.

Além disso, há evidências da influência de diversos fatores intrínsecos aos peixes e fatores ambientais que influenciam a atividade da miostatina. Entre estes podem-se citar: a fase de crescimento (XU et al., 2003), a temperatura (WEBER; BOSWORTH, 2005) e restrição alimentar (WEBER; BOSWORTH, 2005; NEBO et al., 2013), entre outros fatores. Por isso, o conhecimento da atuação destes fatores sobre a atividade inibitória da miostatina é de grande importância para que se possam ser utilizadas medidas para diminuição do seu impacto, com consequente melhora no crescimento muscular dos peixes cultivados.

Assim, o intuito desta pesquisa foi avaliar o efeito do cultivo em hapas alocadas em tanques de concreto e do cultivo em viveiros escavados sobre a distribuição dos diâmetros das fibras musculares brancas e a expressão gênica da miostatina, nas variedades GIFT e Supreme de tilápias do Nilo durante as fases de cultivo.

Material e métodos

Local de realização e condições experimentais

Os peixes utilizados no experimento foram cultivados em duas diferentes localidades, sendo o cultivo em hapas, realizado em uma piscicultura localizada no município de Londrina (23°18' de Latitude Sul e 51°08' de Longitude a Oeste de Greenwich, a uma altitude média de 519 m), e o cultivo em viveiros escavados, realizado em uma piscicultura situada no município de Florestópolis (22°50' de Latitude Sul e 51°23' de Longitude a Oeste de Greenwich, a uma altitude média de 777 m).

Foram utilizados alevinos de tilápia do Nilo invertidos sexualmente das variedades GIFT (5ª geração) e Supreme, com peso médio de 0,83 gramas e comprimento médio oscilando entre dois a três centímetros.

Nos dois sistemas de cultivo, foram utilizados os mesmos manejos alimentares e as mesmas rações específicas para cada fase de criação, sendo para as fases de alevinos, juvenis, crescimento e engorda, respectivamente: farelada com 55% de PB, extrusada 1,0 mm com 45% de PB, extrusada 1,7 mm com 42% de PB e extrusada 3,0 mm com 30% de PB. A ração foi fornecida *ad libitum* durante todas as fases de cultivo, sendo a quantidade dividida em três arraçoamentos diários.

Foram realizadas reclassificações no final de cada uma das fases, com o objetivo de manter a uniformidade dos lotes para o início da próxima fase, com base nos pesos médios obtidos em coletas massais realizadas no fim de cada fase.

Também foram realizadas no final de cada fase de cultivo análises dos seguintes parâmetros da qualidade da água: temperatura, pH, oxigênio dissolvido (mg/L), saturação de oxigênio (%), alcalinidade (mg/L CaCO₃), amônia tóxica e transparência.

Cultivo dos peixes

O período experimental teve duração de 204 dias, sendo dividido em quatro fases: cultivo de alevinos, cultivos de juvenis, crescimento e engorda, tendo início em 29 de janeiro de 2013 e sendo finalizado em 20 de agosto de 2013.

No cultivo em hapas, os peixes foram inseridos inicialmente em hapas confeccionadas em sombrite verde em malha 1x2 mm, com 1,4 m de comprimento, 0,6 m de largura e 0,8 m de profundidade, sendo uma por variedade. As hapas foram alocadas no mesmo tanque de concreto com entrada e saída constante de água e renovação total a cada 290 minutos, sendo esta água proveniente de poço artesiano. No início da primeira fase foram utilizados 200 alevinos de cada variedade (GIFT e Supreme), totalizando 400. Devido às reclassificações o número de peixes no início de cada uma das fases seguintes foi: cultivo de juvenis: 143 de ambas as variedades; crescimento: 108 de ambas as variedades; e engorda: 40 da variedade GIFT e 60 da Supreme. No início da fase de engorda, os peixes foram transferidos para um número maior de hapas, sendo os peixes da variedade GIFT separados em três hapas e os da Supreme em quatro hapas, devido ao diferente número de peixes de cada variedade. No entanto, as hapas de ambas as variedades foram mantidas no mesmo tanque de concreto.

No cultivo em viveiros escavados, os peixes foram alocados em viveiros com 200 m² (10m x 20 m), abastecido com água de mina, havendo 10 % de renovação diária. Utilizou-se um viveiro para cada variedade, onde permaneceram até o final do período

experimental. Foram utilizados inicialmente 1234 alevinos de cada variedade, totalizando 2468. Foi realizada uma única reclassificação, no final da fase de cultivo de juvenis, sendo que a fase seguinte foi iniciada com 600 juvenis de cada variedade.

Análise da morfologia do músculo branco

Para análise histológica, foram realizadas coletas para obtenção de amostras musculares a serem utilizadas na análise da morfologia das fibras brancas (Figura 1), aos 23, 50, 113 e 204 dias após início do experimento, de forma a cada coleta representar as fases do cultivo. Para isso foram selecionados aleatoriamente cinco indivíduos de cada variedade em cada sistema de cultivo, totalizando 20 indivíduos por coleta (fase) e 80 em todo o período experimental.

Após cada coleta, os animais foram transportados para o laboratório da estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina (EPUEL), onde permaneceram em repouso por aproximadamente 24 horas. Após esse procedimento, foi realizada insensibilização com dose de 5 ml de eugenol (óleo de cravo) para cada litro de água, sendo em seguida os animais abatidos por meio de corte cervical. De cada um, foi coletada uma amostra da musculatura branca retirada da porção mediana do corpo, abaixo da nadadeira dorsal, que foram fixadas em formalina tamponada (10%), preservadas em álcool 70%, e então, submetidas à inclusão em parafina.

Figura 1 – Coleta de amostras de músculo branco



Fonte: O próprio autor

A partir destas amostras foram realizadas secções transversais de 4 μm coradas em hematoxilina eosina (HE), com as quais foram montadas lâminas histológicas,

sendo uma por animal, a serem avaliadas em microscópio óptico. De cada lâmina, foi mensurada no compartimento profundo, a área de 100 fibras musculares brancas, com a utilização de um microscópio óptico conectado ao programa de análises de imagens Motic Advanced 3.1®. Os valores obtidos foram utilizados na fórmula $D = 2A^{0.5} \pi^{-0.5}$, de acordo com metodologia proposta por Valente et al. (1999) para obtenção de forma indireta do diâmetro das fibras, sendo A o valor da área das fibras. Os diâmetros das fibras foram agrupados em quatro classes: < 20µm, entre 20-30µm, 30-50 µm e >50 µm. As duas primeiras classes foram relacionadas ao crescimento hiperplásico e as outras duas, ao crescimento hipertrófico, seguindo metodologia proposta por Rodriguez Rodriguez (2014). Então, os valores encontrados foram expressos nas proporções da presença das fibras em cada classe de diâmetro em relação ao total de fibras, para avaliação da contribuição relativa dos mecanismos de hiperplasia e hipertrofia.

Expressão gênica da miostatina

Para avaliação quantitativa da expressão gênica do fator de regulação do crescimento muscular, miostatina, foram realizados procedimentos de transcrição reversa seguida da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RTqPCR).

A expressão foi avaliada nas fases de crescimento e engorda, sendo coletadas amostras dos mesmos peixes utilizados na análise histológica nestas fases, contudo, com número diferente de amostras utilizadas. Na fase de crescimento foram utilizadas três, uma, cinco e quatro amostras, para GIFT em hapas, Supreme em hapas, GIFT em viveiros e Supreme em viveiros, respectivamente. Na fase de engorda foram utilizadas três, cinco, cinco e três amostras, para GIFT em hapas, Supreme em hapas, GIFT em viveiros e Supreme em viveiros, respectivamente. As amostras de músculo após a coleta, foram então colocadas em tubos individuais contendo a solução RNAlater® e mantidas refrigeradas até o momento das análises.

Extração de RNA

Para extração de RNA, foram pesados 50 mg de cada amostra a qual foram adicionados 1 ml de TRIzol, em seguida foram homogeneizadas com uso de homogeneizador de tecidos. Foi realizada centrifugação por 10 minutos a 12.000 rpm a 4°C, sendo em seguida mantidas em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente. Após isso, foi adicionado 200 µL

de clorofórmio, homogeneizado, mantido em repouso por 3 minutos à temperatura ambiente e realizada nova centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos a 4°C. Após este processo, houve formação de duas fases, sendo retirada a fase aquosa que foi colocada em novo tubo, ao qual foi adicionado 500 µL de isopropanol 100%. Após aguardar 10 minutos à temperatura ambiente, passou por centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos a 4°C. Com a formação do “Pellet” de RNA foi feita lavagem com adição de 1 ml de etanol 75%, realizando-se homogeneização e centrifugação a 7.500 rpm por 5 minutos a 4°C. Após descarte do etanol, o “pellet” de RNA passou por secagem por 10 minutos à temperatura ambiente. Foi realizada suspensão do RNA em água DEPC e incubação em termobloco a 60°C por 15 minutos. O total de RNA resultante foi quantificado com uso de espectrofotômetro.

Tratamento com DNase

Após quantificação, volume contendo 1 µg de RNA foi colocado em um tubo onde foi adicionado 1 µL de 10XDNase I Reaction Buffer, 1 µL de DNase Amp Grade (1U/µL) e volume suficiente de água DEPC para gerar volume total de 10 µL. A solução resultante foi mantida em repouso em temperatura ambiente por 15 minutos, sendo em seguida adicionado 1 µL de 25 nM EDTA (pH 8,0), e incubado a 65°C por 10 minutos, para que ocorresse inativação da enzima DNase.

Transcrição reversa seguida de PCR em tempo real

Para a avaliação quantitativa da expressão da miostatina, foi realizada transcrição reversa seguida da reação da cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), sendo utilizados os primers da miostatina, parálogo MSTN-1 e do gene referência Beta actina (βACT) (Tabela 1). Para isso, foi utilizado o kit GoTaq® 1-Step RT-qPCR System. Utilizou-se para cada uma das amostras (um gene por vez) 5 µL de RNA, 10 µL de GoTaq® RT-qPCR Master Mix 2x, 2 µL de Forward primer 10x, 2 µL de Reverse primer, 0,4 µL de GoScript® RT Mix for 1-Step RT-qPCR 50X, e 0,3 µL Supplemental CXR Reference, e volume suficiente de água DEPC para gerar volume total de 20 µL. As reações foram realizadas para cada um dos genes com o uso do Sistema Real Time PCR 7500, sendo feitas em duplicata. Para transcrição reversa foi realizado um ciclo a temperatura de 37° C por 15 minutos. Na sequência foi realizado um ciclo para inativação da Transcrição reversa e ativação da PCR em tempo real a 95°C por 10 minutos. Seguiu-se com 40 ciclos de PCR em

tempo real, com desnaturação a 95°C por 10 segundos, anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. Por último, realizou-se um ciclo de dissociação a 60-95°C.

Os valores encontrados para expressão da miostatina em cada uma das “corridas” passaram por normalização através dos valores obtidos para o gene referência β ACT, e ao finalizar o processo, foi realizada a análise da curva de dissociação dos fragmentos amplificados.

Tabela 1 – Caracterização dos genes utilizados

Gene	Sequência do primer	Tamanho da amplificação (pb)	Acesso Genbank
MSTN 1	5' CGCAACCACGGAGACAATT 3' 5' CACCTGGACAGCGGAATCA 3'	58	FJ972683
β ACT	5' ACCTTCAACACCCCCGCCAT 3' 5' ACAGGGACAGCACAGCCTGGAT 3'	52	EU887951

Fonte: Adaptado de Mareco (2012)

Análise estatística

Para a análise dos dados da expressão gênica foi utilizado o delineamento estatístico inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (dois sistemas de cultivo, duas variedades genéticas e duas fases de cultivo), sendo realizada análise de variância a 5% de significância, e na constatação de efeitos e interações significativas, teste de Tukey a 5% de significância. As análises foram realizadas com o uso do programa estatístico R.

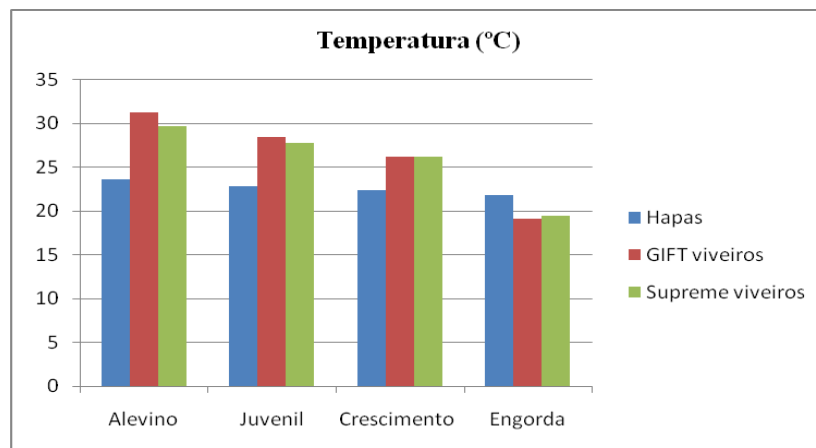
Resultados e Discussão

Nas análises dos parâmetros de qualidade da água, entre os sistemas de cultivo avaliados, foram observadas certas diferenças de temperatura (Figura 2) e níveis de oxigênio dissolvido (OD) (Figura 3), estando os parâmetros de pH, alcalinidade e amônia dentro do recomendado (KUBITZA, 2011; MORO et al., 2013) em ambos os sistemas. Em relação à temperatura, para cultivo de tilápia, a faixa ideal se encontra entre 26 a 30°C (KUBITZA, 2011). Em todas as fases, no cultivo em hapas, a temperatura foi inferior a esses valores, devido ao fato da água ser oriunda de poço artesiano, ou seja, mantendo a temperatura do subsolo, o que proporcionou que permanecesse baixa, sem muitas oscilações durante o período experimental. No cultivo em viveiros, as menores temperaturas foram

evidenciadas apenas na última fase. Quanto aos níveis de OD, os níveis mínimos exigidos pela tilápia em crescimento são 3 mg/L (MORO et al., 2013). Em hapas, os valores estiveram abaixo ou próximos destes níveis durante todo o período experimental, e em viveiros, os níveis foram superiores ao mínimo exigido em todas as fases para ambas as variedades.

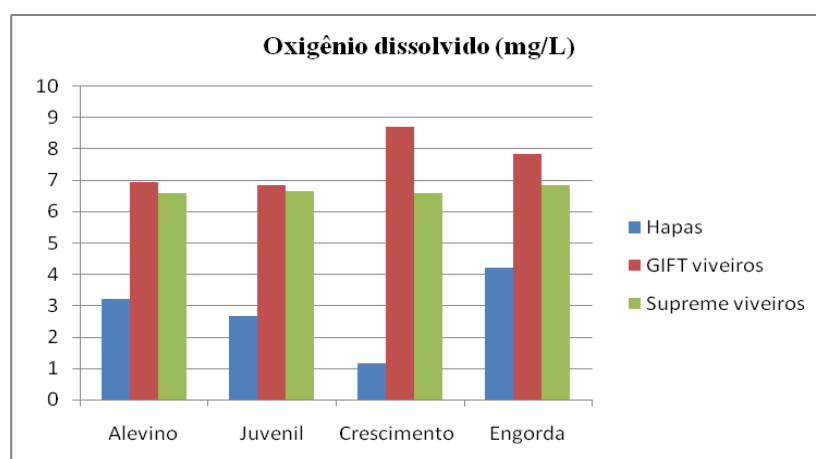
Além disso, foram observadas diferenças na transparência da água, que variou de 40 a 80 cm no viveiro da variedade GIFT e de 40 a 60 cm no viveiro da Supreme, e foi máxima em hapas, sendo demonstrativo da presença de alimento natural em viveiros e ausência ou baixa disponibilidade em hapas.

Figura 2 – Temperatura da água nas fases em cada sistema de cultivo



Fonte: O próprio autor

Figura 3 – Níveis de oxigênio dissolvido nas fases em cada sistema de cultivo



Fonte: O próprio autor

Quanto à distribuição do diâmetro das fibras foram observadas variações no decorrer das fases do cultivo, entre os sistemas e variedades avaliadas (Tabela 2).

Na fase de alevinos (23 dias após início do experimento), houve maior prevalência de fibras com diâmetro $<30 \mu\text{m}$ para todos os grupos. As proporções de fibras com diâmetro entre 20-30 μm foram superiores a proporção de fibras $> 20 \mu\text{m}$, exceto para Supreme em hapas, que apresentou proporções semelhantes para as duas classes. O maior número de fibras pequenas demonstra maior contribuição do crescimento por hiperplasia nesta fase de cultivo. Apesar disso, houve a contribuição do crescimento por hipertrofia, sendo que para fibras com diâmetro $>50 \mu\text{m}$ foram observadas proporções semelhantes entre os grupos, e para classe entre 30-50 μm foram encontradas maiores proporções para os peixes cultivados em viveiros, indicando maior crescimento por hipertrofia neste sistema.

Tabela 2 – Diâmetro das fibras musculares brancas agrupadas em classes

Coleta	Tratamento	Classes de diâmetros das fibras (%)			
		$<20 \mu\text{m}$	20-30 μm	30-50 μm	$>50 \mu\text{m}$
Alevino	GIFT Hapas	32,8	46,6	20,4	0,2
	Supreme Hapas	41,0	41,4	17,0	0,6
	GIFT Viveiros	28,2	43,8	27,4	0,6
	Supreme Viveiros	34,6	36,0	28,0	1,4
Juvenil	GIFT Hapas	19,0	44,6	31,8	4,6
	Supreme Hapas	19,6	42,0	35,8	2,6
	GIFT Viveiros	11,0	22,8	60,6	5,6
	Supreme Viveiros	9,4	33,0	55,0	2,6
Crescimento	GIFT Hapas	5,4	14,4	52,8	27,4
	Supreme Hapas	7,8	17,6	41,6	33,0
	GIFT Viveiros	4,6	2,8	19,0	73,6
	Supreme Viveiros	2,4	11,8	35,4	50,4
Engorda	GIFT Hapas	1,8	4,2	15,8	78,2
	Supreme Hapas	0,2	0,4	16,2	83,2
	GIFT Viveiros	0,0	1,0	14,4	84,6
	Supreme Viveiros	1,0	1,6	19,0	78,4

Legenda: Dados descritivos, não tendo sido realizada análise estatística.

Fonte: O próprio autor

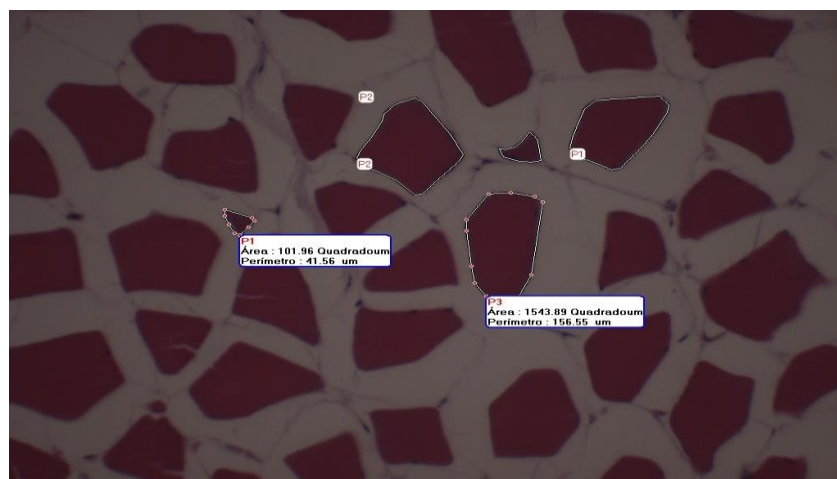
Na fase de juvenis (50 dias após início do cultivo), houve diminuição evidente de fibras com diâmetro $< 20 \mu\text{m}$ em todos os grupos. Contudo, para ambas as variedades em hapas, ainda houve prevalência do crescimento por hiperplasia, apesar do aumento da proporção de fibras na classe de 30-50 μm . Para ambas as variedades em viveiros, houve prevalência do crescimento hipertrófico, observado principalmente através das altas proporções de fibras na classe de 30-50 μm , sendo maiores para a GIFT.

Para a fase de crescimento (113 dias após início do cultivo) foi observado aumento da proporção de fibras nas classes de diâmetros maiores, em relação à fase anterior, representando maior contribuição do crescimento hipertrófico em todos os grupos. Maiores valores na classe de 30-50 μm foram observados em hapas e maiores valores na classe >50 μm em viveiros, com proporções mais elevadas para a variedade GIFT. Somado a isso, apesar da diminuição gradual de fibras com diâmetros menores em todos os grupos, os valores foram superiores para o cultivo em hapas, demonstrando o maior potencial de crescimento das fibras no cultivo em viveiros.

Em relação à fase de engorda (204 dias após início do cultivo), houveram menores diferenças entre os grupos, com proporções de fibras nas classes indicando o crescimento hipertrófico representando quase a totalidade de fibras, com maiores valores da classe >50 μm . Apesar de se apresentarem em baixas proporções, fibras nas classes de menores diâmetros foram observadas em todos os grupos, com valores superiores para GIFT em hapas. Esta característica é de extrema importância, pois o crescimento muscular depende da manutenção do recrutamento de fibras, demonstrado por fibras de pequeno diâmetro.

Assim, a distribuição das fibras demonstra haver diferenças de padrões no decorrer no período experimental, sendo observada uma distribuição em mosaico, ou seja, uma mistura de diferentes diâmetros (Figura 4), possivelmente ocasionados pela combinação da ocorrência da hiperplasia e hipertrofia.

Figura 4 – Distribuição das fibras musculares brancas com diferentes diâmetros



Legenda: Fibra menor com 101,96 μm^2 , ou 11 μm de diâmetro; fibra maior com 1543,89 μm^2 de área, ou 44 μm de diâmetro, indicando hiperplasia e hipertrofia, respectivamente.

Fonte: O próprio autor

O aumento gradativo da proporção de fibras maiores, com consequente diminuição de fibras de menor diâmetro observado neste trabalho, concorda com o encontrado por outros estudos. Ao avaliarem o crescimento da musculatura branca em pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Almeida et al. (2008) encontraram frequência superior de fibras com diâmetro nas classes de $< 20 \mu\text{m}$ e $20\text{-}50 \mu\text{m}$ em juvenis, e frequências superiores da classe $> 50 \mu\text{m}$ em adultos, demonstrando segundo os próprios autores, a maior prevalência da hiperplasia em juvenis e da hipertrofia em adultos. Fato semelhante foi obtido por Aguiar et al. (2008), que trabalhando com tilápia do Nilo, observaram maiores proporções de fibras com diâmetro inferior a $32 \mu\text{m}$ em alevinos e juvenis, e maior proporção de fibras superiores a esse diâmetro em adultos, demonstrando diminuição gradual de fibras de menores diâmetros no decorrer do crescimento. Ainda, Carani et al. (2008), observaram crescimento predominantemente por hiperplasia em alevinos de pirarucu (*Arapaima gigas*) com a maioria das fibras com diâmetro menor que $30 \mu\text{m}$ e por hipertrofia nos juvenis, com a maior parte das fibras apresentando diâmetro superior a $30 \mu\text{m}$, apesar de ainda ocorrer contribuição da hiperplasia nesta fase. O encontrado no presente estudo e pelos trabalhos mencionados indicam que apesar do crescimento do músculo branco em peixes ocorrer tanto pelos processos de hiperplasia e hipertrofia, estes ocorrem de forma diferenciada, com recrutamento de novas fibras com grande importância nas fases iniciais e aumento do tamanho das fibras sendo responsável pela maior parte do crescimento na vida adulta.

Outro aspecto observado foi a maior proporção de crescimento hipertrófico em ambas as variedades cultivadas em viveiros escavados, com maiores proporções para a variedade GIFT, que ocorreu de forma mais evidente à partir da fase de juvenil. Na fase de engorda, estas diferenças diminuíram, visto que no cultivo em hapas para ambas as variedades, houve aumento expressivo da contribuição da hipertrofia em relação à fase anterior, em especial das fibras com diâmetro $>50 \mu\text{m}$. Essas diferenças de crescimento muscular entre os sistemas podem ter ocorrido devido às variações observadas, entre elas as diferenças de temperatura, níveis de OD e transparência.

As baixas temperaturas influenciam o crescimento em tilápias de forma negativa, pois ocasionam a queda de consumo e piora na conversão alimentar (AZAZA; DHRAÏEF; KRAÏEM, 2008; EL-SAYEED; KAWANA, 2008). Além disso, para algumas espécies de peixes, tem sido evidenciado o efeito deste fator sobre a celularidade muscular. Fato que foi observado por Paula et al. (2014), que avaliando o efeito de diferentes temperaturas de cultivo sobre o crescimento muscular em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após 30 e 60 dias de cultivo, encontraram maior frequência de fibras com diâmetro $< 25 \mu\text{m}$

em peixes cultivados a 24°C em relação a peixes cultivados a 28 e 32°C, demonstrando o efeito da baixa temperatura sobre o recrutamento de novas fibras e o efeito das temperaturas mais elevadas sobre o aumento do diâmetro das fibras. Contrariamente, trabalhando com *O. niloticus*, Mareco (2012) não observou diferenças na distribuição do diâmetro das fibras em peixes cultivados sob temperatura de 22, 28, e 32 °C, não sendo demonstrada dessa forma a influência das baixas temperaturas (22°C). No presente estudo, é possível também que não tenha ocorrido a influência da baixa temperatura, visto que na fase de engorda no cultivo em viveiros a temperatura observada de 19°C observada para ambas as variedades parece não ter tido grande influência sobre a crescimento muscular, sendo evidenciado aumento do diâmetro das fibras nas duas variedades, sendo superior para GIFT. Assim, é provável que em hapas, os menores níveis de hipertrofia tenham sido influenciados pela ação conjunta da baixa temperatura com os outros fatores negativos.

Quanto aos baixos níveis de OD, estes proporcionam queda no crescimento, devido a, entre outros fatores, ao maior gasto energético com a atividade respiratória, na tentativa de compensar os níveis (TRAN-DUY et al., 2008; POPOUTSOGLOU; TZIHA, 1996; FERNANDES; RANTIN, 1994), podendo haver consequências sobre o crescimento muscular. Esse efeito foi encontrado por Matschak et al. (1998) que avaliando o crescimento de embriões de truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), observaram decréscimo do número de fibras musculares brancas com a diminuição da tensão de oxigênio em condição de baixa temperatura. Esses resultados demonstram a ação em conjunto da baixa temperatura e baixo oxigênio disponível, o que pode ter ocorrido no presente estudo, visto que as baixas temperaturas, como mencionado, possivelmente não apresentaram grande efeito sobre o crescimento muscular agindo sozinhas.

O aporte nutricional extra gerado pela disponibilidade de alimento natural em viveiros, evidenciado pelos valores de transparência da água, pode proporcionar melhor desempenho pela sua elevada qualidade nutritiva. Isso concorda com o observado por Ribeiro et al. (2011), que encontraram maior acúmulo de proteína bruta no músculo de tilápias cultivadas em viveiros escavados sem suplementação de alimento artificial em relação a um grupo cultivado em tanque de concreto recebendo apenas alimento artificial, o que ocorreu devido ao elevado teor protéico do fitoplâncton encontrado em viveiros. Abou et al. (2013), observaram que grupos de *O. niloticus* quando recebendo a mesma dieta apresentaram maior crescimento no cultivo em viveiros escavados em comparação ao cultivo em tanque de concreto, devido principalmente ao elevado teor de proteínas, aminoácido e ácidos graxos presentes no alimento natural. Visto que o alimento natural pode proporcionar maior

crescimento e alterar a composição do músculo, é possível que este tenha sido um dos fatores que ocasionaram o maior diâmetro das fibras no cultivo em viveiros do presente estudo.

Ainda em relação ao cultivo em viveiros escavados, foi observada à partir da coleta realizada na fase de juvenis maior proporção de fibras com elevados diâmetros para a variedade GIFT, com proporções se tornando semelhantes aos demais grupos na última fase. Estudos comparando a celularidade muscular entre diferentes variedades têm demonstrado algumas diferenças. Entre estes, Valente et al. (1999), avaliando a distribuição dos tamanhos das fibras no músculo de duas diferentes variedades de truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), observaram maior nível de hiperplasia em uma variedade de crescimento rápido (Cornec) em relação a uma variedade de crescimento lento (Mirwart), o que segundo os autores, demonstra que o maior potencial desta variedade está relacionado com a capacidade de manter o recrutamento de novas fibras. No presente estudo, apesar da diminuição mais rápida de fibras com pequenos diâmetros, a variedade GIFT em viveiros apresentou fibras de pequenos diâmetros até a última fase, apesar de presentes em pequena proporção, demonstrando a presença de hiperplasia. Além disso, de acordo com Nejedli et al. (2011), a presença de fibras pequenas não é necessariamente indicativo de rápido crescimento, estando mais relacionado com o tamanho do que com a taxa de crescimento, sendo que mesmo variedades com crescimento lento podem apresentar fibras com pequenos diâmetros. Exemplificando este fato, Dal Pai-Silva (2003), ao avaliar a celularidade muscular de *O. niloticus* em diferentes fases de crescimento, observaram que a hipertrofia foi o principal mecanismo relacionado com o aumento da massa muscular nesta espécie.

Complementarmente, Santos et al. (2012), avaliando o crescimento muscular de variedades de tilápia do Nilo nas classes de comprimento de 5-10 cm e 10-15 cm, encontraram menor contribuição do crescimento hiperplásico na variedade Tailandesa em relação a Supreme, que segundo os autores ocorreu devido ao seu menor potencial de crescimento devido a sua maior precocidade sexual. No entanto, mesmo para a variedade Supreme, com maior potencial de crescimento, foram observadas baixas frequências de fibras de pequenos diâmetros na classe de maior comprimento. Assim, a menor proporção de hiperplasia para GIFT em viveiros pode ter ocorrido em função do seu maior tamanho em relação aos outros grupos.

Além disso, o maior grau de hipertrofia não está ligado apenas a variedade, pois a GIFT em hapas não apresentou o mesmo padrão. Como comentado, as melhores condições do cultivo em viveiros em relação à hapas, foi o que possivelmente proporcionou o maior nível de hipertrofia das fibras musculares dos peixes, com a variedade GIFT

aparentemente apresentando maior adaptabilidade as condições existentes em relação à Supreme, visto a maior proporção de fibras com maiores diâmetros. Possivelmente isso ocorreu devido à maior capacidade da variedade GIFT em aproveitar as condições favoráveis presentes em viveiro para seu crescimento, sendo aqui demonstrado pelo maior crescimento das fibras, o que provavelmente é resultado do programa de melhoramento genético realizada nesta variedade, visto que o inicialmente o foco do projeto GIFT era atender a produção em viveiros escavados (BENTSEN et al., 2012), que contudo gerou também resultados adequados em outros diversos sistemas de cultivos. Santos (2009) observou maior herdabilidade para peso corporal da GIFT quando cultivada em melhores condições nutricionais e maior nível de aeração. Esta constatação é uma das possíveis explicações para os bons resultados em viveiros, e conseqüentemente o menor crescimento das fibras em hapas.

Os resultados das médias da análise de expressão quantitativa da miostatina demonstraram haver diferenças entre os grupos avaliados (Tabela 3). Os valores apresentados são inversamente proporcionais, ou seja, quanto maior o valor encontrado, menor a expressão da miostatina. Isso ocorre porque o valor apresentado é o ponto onde o gene começou a ser amplificado, e quanto mais demorou (maiores valores), menos estava sendo expresso.

Tabela 3 – Médias de expressão gênica da miostatina por fase, sistema e variedade

	Crescimento		Engorda	
	GIFT	Supreme	GIFT	Supreme
Hapas	8,547	10,380	7,270	8,072
Viveiros	6,290	8,625	8,218	7,890

Legenda: Quanto mais elevado o valor, menor a expressão gênica da miostatina.

Fonte: O próprio autor

Na análise estatística, não foram observados os efeitos dos fatores variedade, sistema e fase de cultivo, sendo constatada apenas a interação do sistema de cultivo x fase de cultivo (Tabela 4), onde foi observada menor expressão no cultivo em hapas em relação ao cultivo em viveiros durante a fase de crescimento, demonstrando maior atividade da miostatina durante esta fase no referido sistema, não havendo diferenças na fase de engorda. Como não houve efeito do fator variedade, tampouco sua interação com os outros fatores, é constatada que não ocorreu diferença da atividade deste fator de crescimento entre a GIFT e a Supreme.

Tabela 4 – Comparação das médias de expressão gênica da miostatina na interação sistema x fase de cultivo

	Hapas	Viveiros
Crescimento	9,005 Aa	7,328 Ab
Engorda	7,771 Aa	8,095 Aa

Legenda: Médias acompanhadas de letras minúsculas diferentes na horizontal diferem quanto ao efeito do sistema de cultivo sobre a fase. Não houve efeito das fases sobre os sistemas (letras maiúsculas entre as linhas).

Fonte: O próprio autor

As distinções na expressão gênica na fase de crescimento podem estar relacionadas com os resultados de crescimento muscular, visto que na fase de engorda não foram constatadas grandes diferenças nas proporções de crescimento hiperplásico e hipertrófico entre os sistemas, tampouco, diferenças na expressão gênica. Durante a fase de crescimento ainda houve maior proporção de crescimento hipertrófico em viveiros em relação à hapas, coincidindo com a maior expressão de miostatina neste sistema. Isso concorda com o observado por Jahansen e Overturf (2005), que encontraram aumento da expressão da miostatina em trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) com 140 g em relação a peixes menores, que segundo os autores possivelmente ocorreu para atenuar o aumento da diferenciação de mioblastos e hipertrofia que estava ocorrendo. Com base nisso, no presente estudo, a maior expressão no músculo de peixes cultivados em viveiros na fase de crescimento pode ter ocorrido com a função de limitar a intensa hipertrofia que estava ocorrendo, demonstrando o papel da miostatina no controle do aumento do diâmetro das fibras.

Adicionalmente, Santis, Gomes e Jerry (2012), observaram correlação positiva da expressão do parálogo MSTN-1 da miostatina com o aumento do tamanho dos peixes e dos níveis de hipertrofia, sendo que estes autores sugeriram que este gene estaria relacionado à ativação da diferenciação e fusão de células mio-satélites. Como no presente estudo o gene utilizado foi também o MSTN-1, o fato acima mencionado concorda com as diferenças na expressão acompanhada de diferenças de proporções de hipertrofia na fase de crescimento entre os sistemas, e as menores diferenças de expressão gênica e de proporção de hipertrofia na fase de engorda, demonstrando haver relação entre hipertrofia e expressão da MSTN-1. Além disso, concordando com esta relação, apesar de não ter ocorrido efeito significativo da variedade, a GIFT em viveiros na fase de crescimento apresentou maior expressão gênica, que coincide com o maior nível de hipertrofia, sendo outro indicativo da relação dos níveis de miostatina com o aumento do diâmetro das fibras musculares.

Contudo, na análise de expressão gênica, para a coleta da variedade Supreme em hapas na fase de crescimento devido ao baixo número de amostras que foram possíveis de serem utilizadas, provavelmente nova amostragem deve ser realizada para confirmação do resultado.

Conclusão

Foi constatada a influência da fase de cultivo sobre os diâmetros das fibras da musculatura branca, além de maior diâmetro nos peixes cultivados em viveiros, com a variedade GIFT demonstrando maior potencial de crescimento muscular neste sistema em relação à Supreme. Para expressão da miostatina houve apenas diferenças na fase de crescimento, com maior expressão em peixes cultivados em viveiros, resultado este relacionado ao maior crescimento hipertrófico. No entanto, outras pesquisas avaliando como ocorre a expressão gênica da miostatina no músculo branco da tilápia do Nilo deverão ser realizadas.

Referências

- ABOU, Y.; AINA, M. P.; FIOGBÉ, E. D.; MICHA, J. Growth and fatty acid composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. fed *Azolla*-diets, in tanks and in earthen ponds: A comparative study. **Natural Science**, Irvine, v. 5, n.1, p. 77-83, jan., 2013.
- ACOSTA, J.; CARPIO, Y.; BORROTO, I.; GONZÁLEZ, O.; ESTRADA, M P. Myostatin gene silenced by RNAi show a zebrafish giant phenotype. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.119, n.4, p.324–331, out., 2005.
- AGUIAR, D. H.; BARROS, M. M.; PADOVANI, C. R.; PEZZATO, L. E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 67, n. 5, p. 1287-1298, nov., 2005.
- AGUIAR, D. H.; BOCK, C.; PADOVANI, C. R.; DAL PAI-SILVA; M. MyoD, myogenin and proliferating cell nuclear antigen expression in growing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, Oxford, v.39, n. 15, 1673-1679, nov., 2008.
- ALAMI-DURANTE, H.; MÉDALE, F.; CLUZEAUD, M.; KAUSHIK, S. J. Skeletal muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscles of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fishmeal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 303, n. 1-4, p. 50-58, maio, 2010a.
- ALAMI-DURANTE, H.; WRUTNIAK-CABELLO, C.; KAUSHIK, S. J.; MÉDALE, F. Skeletal muscle cellularity and expression of myogenic regulatory factors and myosin heavy

chains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of changes in dietary plant protein sources and amino acid profiles. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, Nova Iorque, v. 156, n. 4, p. 561–568, ago., 2010b.

ALMEIDA, F. L. A.; CARVALHO, R. F.; PINHAL, D.; PADOVANI, C. R.; MARTINS, C.; DAL-PAI SILVA, M. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. **Micron**, Oxford, v. 39, n.8, p.1306–1311, dez., 2008.

AZAZA, M. S.; DHRAÏEF, M. N.; KRAÏEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 98-105, fev., 2008.

BENTSEN, H. B.; GJERDE, B.; NGUYEN, N. H.; RYE, M.; PONZONI, R. W.; PALADA DE VERA, M. S.; BOLIVAR, H. L.; VELASCO, R. R.; DANTING, J. C.; DIONISIO, E. E.; LANGALONG, F. M.; REYES, R. A.; ABELLA, T. A.; TAYAMEN, M. M.; EKNATH, A. E. Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 338-341, p.56-65, mar., 2012.

CARANI, F. R.; AGUIAR, D. H.; ALMEIDA, F. L. A.; GONÇALVES, H. S.; PADOVANI, C. R.; DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 205-211, abr./jun.2008.

CARANI, F. R.; DURAN, B. O. S.; DE PAULA, T. G.; PIEDADE, W. P.; DAL-PAI SILVA, M. Morphology and expression of genes related to skeletal muscle growth in juveniles of pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimatidae, Teleostei). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 219-226, jul./set., 2013.

CHISADA, S.; OKAMOTO, H.; TANIGUCHI, Y.; KIMORI, Y.; TOYODA, A. Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development. **Developmental Biology**, San Diego, v. 359, n. 1, p.82-94, nov., 2011.

DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F.; PELLIZZON, C. H.; DAL PAI, V. Muscle growth in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histochemical, ultrastructural and morphometric study. **Tissue & Cell**, Edinburgo, v.35, n.3, p. 179–187, jun., 2003.

EL-SAYED, A. M.; KAWANNA, M. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 670-672, abr., 2008.

FERNANDES, M. N.; RANTIN, F. T. Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 127, n. 4, p. 339-346, nov., 1994.

JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K. Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Marine Biotechnology**, Nova Iorque, v.7, n.6, p. 576-587, nov./dez., 2005.

JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K. Alterations in expression of genes associated with muscle metabolism and growth during nutritional restriction and refeeding in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 144, n.1, p.119–127, maio, 2006.

JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 177, n. 1-4, p.99–115, jul., 1999.

KAMASZEWSKI, M.; PRASEK, M.; OSTASZEWSKA, T.; DABROWSKI, K. The influence of feeding diets containing wheat gluten supplemented with dipeptides or free amino acids on structure and development of the skeletal muscle of carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture International**, Londres, v. 22, n.1, p. 259-271, fev., 2014.

KUBTIZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí: F. Kubtiza, 2011. 316 p.

LANGLEY, B.; THOMAS, M.; BISHOP, A.; SHARMA, M.; GILMOUR, S.; KAMBADUR, R. Myostatin inhibits myoblast differentiation by down regulating MyoD expression. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.277, n. 51, p.49.831-49.840, set., 2002.

LEE, C.-Y.; HUC, S.-Y.; GONG, H.-Y.; CHEN, M. H.-C.; LU, J.-K.; WUA, J.-L.. Suppression of myostatin with vector-based RNA interference causes a double-muscle effect in transgenic zebrafish. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Amsterdam, v.387, n.4, p.766–771, out., 2009.

LEE, S. B.; KIM, Y. S.; OH, M-Y; JEONG, I-H; SEONG, K-B.; JIN, H-J. Improving rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth by treatment with a fish (*Paralichthys olivaceus*) myostatin prodomain expressed in soluble forms in *E. coli*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 302, n. 3-4, p. 270-278, abr., 2010.

LOHNE, P.; IMSLAND, A. K.; LARSE, S.; FOSS, A.; PITTMAN, K. Interactive effect of photoperiod and temperature on the growth rates, muscle growth and feed intake in juvenile Atlantic halibut. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 187–197, jan., 2012.

MARECO, E. A. **Efeitos da temperatura na expressão de genes relacionados ao crescimento muscular em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MATSCHAK, T. W.; STICKLAND, N. C.; MASON, P. S.; CROOK, A. R. Oxygen availability and temperature affect embryonic muscle development in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Differentiation**, Londres, v. 61, n. 4, p. 229–235, maio, 1997.

MATSCHAK, T. W.; HOPCROFT, T.; MASON, P. S.; CROOK, A. R.; STICKLAND, N. C. Temperature and oxygen tension influence the development of muscle cellularity in embryonic rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 53, n. 3, p.581-590, set., 1998.

MORO, G. V.; TORATI, L. S.; LUIZ, D. B.; MATOS, F. T. Monitoramento e manejo da qualidade da água em pisciculturas. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2013. p. 141-169.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011**. Brasília: MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura, 2013, 60 p.

NACHTIGALL, P. G. **Perfil de expressão e organização genômica de MicroRNAs músculo-específicos na tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2012.

NEBO, C.; PORTELLA, M. C.; CARANI, F. R.; ALMEIDA, F. L. A.; PADOVANI, C. R.; CARVALHO, R. F.; DAL-PAI SILVA, M. Short periods of fasting followed by refeeding change the expression of muscle growth-related genes in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v.164, n.4, p.268–274, abr., 2013.

NEJEDLI, S.; KOZARIC, Z.; GAJGER, I. T.; MATASIN, Z. Relationships between length, body weight and histomorphology trunk muscles of Common Pandora (*Pagellus erythrinus* Lineatus, 1758). **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v.10, n.16, p. 2181-2185, 2011.

PAULA, T. G.; ALMEIDA, F. L. A.; CARANI, F. R.; VECHETTI-JÚNIOR, I. J.; PADOVANI, C. R.; SALOMÃO, R. A. S.; MARECO, E. A.; SANTOS, V. B.; DAL-PAI-SILVA, M. Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 169, p. 31-37, mar., 2014.

PERIAGO, M. J.; AYALA, M. D.; LÓPEZ-ALBORS, O.; ABDEL, I.; MARTÍNEZ, C.; GARCÍA-ALCÁZAR, A.; ROS, G.; GIL, F. Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, n. 1-4, p. 175-188, set., 2005.

POPOUTSOGLOU; S. E.; TZIHA, G. Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentrations under recirculated conditions. **Aquacultural Engineering**, Londres, v. 15, n. 3, p. 181-192, maio, 1996.

RIBEIRO, P. A. P.; ROSA, P. V.; VIEIRA, J. S.; GONÇALVES, A. C. S.; FREITAS, R. T. F. Perfil lipídico e composição química de tilápias nilóticas em diferentes condições de cultivo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n.1, p. 199-208, jan./mar., 2011.

RESCAN, P. Y. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, Oxford, v. 130, n. 1, p. 1-12, ago., 2001.

RODRIGUEZ RODRIGUEZ, M. D. P. **Polimorfismos no gene do hormônio do crescimento associado a características de crescimento de tilápia do Nilo**. 2014. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Estadual de Maringá. 2014.

SANTIS, C.; GOMES, G. B.; JERRY, D. R. Abundance of myostatin gene transcripts and their correlation with muscle hypertrophy during the development of barramundi, *Lates calcarifer*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, Oxford, v. 163, n.1, p.101–107, set., 2012.

SANTOS, A. I. **Interação genótipo-ambiente e estimativas de parâmetros genéticos em tilápias**. 2009. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SANTOS, V. B. ; YOSHIHARA, E.; MARECO, E. A.; FREITAS, R. T. F.. Muscle growth of two Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains. **Journal of Agricultural Science and Technology B**, Libertyville, v.2, n.11, p.1195-1202, nov., 2012.

SEILIEZ, I.; SABIN, N.; GABILLARD, J.-C. Myostatin inhibits proliferation but not differentiation of trout myoblasts. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Limerick, v. 351, n.2, p. 220–226, abr., 2012.

STOIBER, W.; HASLETT, J. R.; WENK, R.; STEINBACHER, P; GOLLMANN, H. P.; SÄNGER, A. M. Cellularity changes in developing red and white fish muscle at different temperatures: simulating natural environmental conditions for a temperate freshwater cyprinid. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 205, n. 16, p. 2349–2364, ago, 2002.

TRAN-DUY, A.; SCHRAMA, J. W.; VAN DAM, A. A.; VERRETH, J. A. J. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, n. 1-4, p. 152-162, mar., 2008.

VALENTE, L. M. P.; ROCHA, E.; GOMES, E. F. S.; SILVA, M. W.; OLIVEIRA, M. H.; MONTEIRO, R. A. F.; FOUCONNEAU, B. Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 55, n.4, p. 675–691, out., 1999.

WEBER, T. E.; BOSWORTH, B. G. Effects of 28 day exposure to cold temperature or feed restriction on growth, body composition, and expression of genes related to muscle growth and metabolism in channel catfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 246, n. 1-4, p. 483– 492, maio, 2005.

XU, C.; WU, G.; ZOHAR, Y.; DU, S.-J. Analysis of *myostatin* gene structure, expression and function in zebrafish. **The Journal of Experimental Biology**, London, v.206, n. 22, p.4067-4079, nov., 2003.

6 CONCLUSÃO

Nos resultados de desempenho houve influência da fase, com diferentes comportamentos de crescimento no decorrer do cultivo. Foi observado melhor desempenho no cultivo em viveiros, o que pode estar relacionado às melhores condições ambientais neste sistema, sendo que a variedade GIFT foi mais apta em aproveitar esta situação em seu desempenho. Em contraste, em hapas houveram condições restritivas que proporcionaram resultados abaixo dos exigidos em termos comerciais, e devido a isso o maior crescimento da Supreme para alguns parâmetros não pode ser considerado relevante do ponto de vista produtivo.

Na análise histológica, houve aumento gradual do diâmetro das fibras, com aumento mais acelerado sendo observado para ambas as variedades cultivadas em viveiros escavados, que pode ter ocorrido também devido às condições ambientais favoráveis, com maiores proporções de hipertrofia para a GIFT, sendo possível reflexo de sua maior capacidade de crescimento muscular nestas condições. Na análise genética, foi observada maior expressão da miostatina durante a fase de crescimento nos peixes cultivados em viveiros em relação aos cultivados em hapas, que pode estar relacionado às maiores proporções de hipertrofia encontradas neste cultivo.

Tais dados demonstram concordância entre os resultados de desempenho, crescimento muscular e expressão gênica, exceto pelo fato de não ter ocorrido influência da variedade genética sobre a expressão da miostatina. Contudo, outras pesquisas avaliando o comportamento da expressão gênica da miostatina em tilápias do Nilo deverão ser realizadas.

REFERÊNCIAS

- ABOU, Y.; AINA, M. P.; FIOGBÉ, E. D.; MICHA, J. Growth and fatty acid composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. fed *Azolla*-diets, in tanks and in earthen ponds: A comparative study. **Natural Science**, Irvine, v. 5, n.1, p. 77-83, jan., 2013.
- ACOSTA, J.; CARPIO, Y.; BORROTO, I.; GONZÁLEZ, O.; ESTRADA, M P. Myostatin gene silenced by RNAi show a zebrafish giant phenotype. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.119, n.4, p.324–331, out., 2005.
- AGUIAR, D. H.; BARROS, M. M.; PADOVANI, C. R.; PEZZATO, L. E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 67, n. 5, p. 1287-1298, nov., 2005.
- AGUIAR, D. H.; BOCK, C.; PADOVANI, C. R.; DAL PAI-SILVA; M. MyoD, myogenin and proliferating cell nuclear antigen expression in growing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, Oxford, v.39, n. 15, 1673-1679, nov., 2008.
- ALAMI-DURANTE, H.; MÉDALE, F.; CLUZEAUD, M.; KAUSHIK, S. J. Skeletal muscle growth dynamics and expression of related genes in white and red muscles of rainbow trout fed diets with graded levels of a mixture of plant protein sources as substitutes for fishmeal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 303, n. 1-4, p. 50-58, maio, 2010a.
- ALAMI-DURANTE, H.; WRUTNIAK-CABELLO, C.; KAUSHIK, S. J.; MÉDALE, F. Skeletal muscle cellularity and expression of myogenic regulatory factors and myosin heavy chains in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of changes in dietary plant protein sources and amino acid profiles. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, Nova Iorque, v. 156, n. 4, p. 561–568, ago., 2010b.
- ALMEIDA, F. L. A.; CARVALHO, R. F.; PINHAL, D.; PADOVANI, C. R.; MARTINS, C.; DAL-PAI SILVA, M. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. **Micron**, Oxford, v. 39, n.8, p.1306–1311, dez., 2008.
- ALMEIDA, F. L. A.; PESSOTI, N. S.; PINHAL, D. ; PADOVANI, C. R.; LEITÃO, N. J.; CARVALHO, R. F.; MARTINS, C.; PORTELLA, M. C.; DAL PAI-SILVA, M. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. **Micron**, Oxford, v. 41, n. 8, p. 997-1004, dez., 2010.
- ALMEIDA, D. B. **Avaliações reprodutivas em três linhagens de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Brasil**. 2012. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- AZAZA, M. S.; DHRAÏEF, M. N.; KRAÏEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 98-105, fev., 2008.

- BEJDA, A. J.; PHELAN, B. A.; STUDHOLME, A. L. The effect of dissolved oxygen on the growth of young-of-the-year winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, v. 34, n. 3, p. 321-327, jul., 1992.
- BENTSEN, H. B.; GJERDE, B.; NGUYEN, N. H.; RYE, M.; PONZONI, R. W.; PALADA DE VERA, M. S.; BOLIVAR, H. L.; VELASCO, R. R.; DANTING, J. C.; DIONISIO, E. E.; LANGALONG, F. M.; REYES, R. A.; ABELLA, T. A.; TAYAMEN, M. M.; EKNATH, A. E. Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 338-341, p.56-65, mar., 2012.
- BEYRUTH, Z.; MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FUSCO, S. M.; FARIA, F. C.; SILVA, A. L. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçoamento. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 30, n.1, p.9-24, jul., 2004.
- BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e Características de Carcaça de Machos Revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagens Tailandesa e Comum, nas Fases Inicial e de Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n.5, p.1391-1396, set./out., 2001.
- CARANI, F. R.; AGUIAR, D. H.; ALMEIDA, F. L. A.; GONÇALVES, H. S.; PADOVANI, C. R.; DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 205-211, abr./jun., 2008.
- CARANI, F. R.; DURAN, B. O. S.; DE PAULA, T. G.; PIEDADE, W. P.; DAL-PAI SILVA, M. Morphology and expression of genes related to skeletal muscle growth in juveniles of pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimatidae, Teleostei). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 219-226, jul./set., 2013.
- CARMO, J. L.; FERREIRA, D. A.; SILVA JUNIOR, R. F.; SANTOS, R. M. S; CORREIA, E. S. Crescimento de três linhagens de tilapia sob cultivo semi-intensivo em viveiros. **Caatinga**, Mossoró, v. 21, n.2, p.20-26, abr./jun., 2008.
- CHARO-KARISA, H.; KOMEN, H.; REYNOLDS, S.; REZK, M. A.; PONZONI, R. W.; BOVENHUIS, H. Genetic and environmental factors affecting growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles: Modelling spatial correlations between hapas. **Aquaculture**, v. 255, n. 2-4, p. 586–596, maio, 2006.
- CHISADA, S.; OKAMOTO, H.; TANIGUCHI, Y; KIMORI, Y.; TOYODA, A. Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development. **Developmental Biology**, San Diego, v. 359, n. 1, p.82-94, nov., 2011.
- DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F.; PELLIZZON, C. H.; DAL PAI, V. Muscle growth in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histochemical, ultrastructural and morphometric study. **Tissue & Cell**, Edinburgo, v.35, n.3, p. 179–187, jun., 2003.

EL SAYED, A. F. M. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. **Aquaculture Research**, Oxford, v.33, n. 8, p.621-626, jul., 2002.

EL-SAYED, A. M.; KAWANNA, M. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 670-672, abr., 2008.

ENGDAW, F.; DADEBO, E.; NAGAPPAN, R. Morphometric Relationships and Feeding Habits of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) (Pisces: Cichlidae) From Lake Koka, Ethiopia. **International Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Faisalabad, v. 2, n.4, p. 65-71, nov., 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics**, 2012. Roma: FAO - Food and Agriculture Organization of the United States, 2014. 105 p.

FARIA, A. C. E. A.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M. Dinâmica da comunidade fitoplancônica e variáveis físicas e químicas em tanques experimentais submetidos a diferentes adubações orgânicas. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 291-297, abr./jun., 2001.

FERNANDES, M, N.; RANTIN, F. T. Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 127, n. 4, p. 339-346, nov., 1994.

FÜLBER, V. M.; MENDEZ, L. D. V.; BRACCINI, G. L.; LOPERA BARRERO, N. M. Desempenho comparativo de três linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 177-182, abr./jun., 2009.

FÜLBER, V. M.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L. D.; BRACCINI, G. L.; MARENGONI, N. G.; GODOY, L. C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.32, n.1, p.77-83, jan./mar., 2010.

GALT, N. J.; FROELICH, J. M.; MEYER, B. M.; BARROWS, F. T.; BIGA, P. R. High-fat diet reduces local myostatin-1 paralog expression and alters skeletal muscle lipid content in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v.40, n.3, p. 875-886, jun., 2014.

GAN, L.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; YUE, Y.-R.; YANG, H.-J.; LIU, F.-J.; CHEN, Y.-J.; LIANG, G.-Y. Effects of dissolved oxygen and dietary lysine levels on growth performance, feed conversion ratio and body composition of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 860-869, dez., 2013.

JHA, P.; BARAT, S.; NAYAK, C. R. A comparison of growth, survival rate and number of marketable koi carp produced under different management regimes in earthen ponds and concrete tanks. **Aquaculture International**, Londres, v. 14, p. 615-626, dez., 2006.

JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K. Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Marine Biotechnology**, Nova Iorque, v.7, n.6, p. 576-587, nov./dez., 2005.

JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K. Alterations in expression of genes associated with muscle metabolism and growth during nutritional restriction and refeeding in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 144, n.1, p.119–127, maio, 2006.

JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 177, n. 1-4, p.99–115, jul., 1999.

JOHNSTON, I. A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, Londres, v. 209, n. 12, p. 2249-2264, jun., 2006.

JUSTI, K. C.; PADRE, R. G.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Efeito da temperatura da água sobre desempenho e perfil de ácidos graxos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, n.4, out./dez., 2005.

KAMASZEWSKI, M.; PRASEK, M.; OSTASZEWSKA, T.; DABROWSKI, K. The influence of feeding diets containing wheat gluten supplemented with dipeptides or free amino acids on structure and development of the skeletal muscle of carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture International**, Londres, v. 22, n.1, p. 259-271, fev., 2014.

KHAW, H. L.; PONZONI, R. W.; HAMZAH, A.; ABU-BAKAR, K. R.; BIJIMA, P. Genotype by production environment interaction in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.326-329, p. 53-60, jan., 2012.

KUBTIZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí: F. Kubtiza, 2011. 316 p.

KUBITZA, F. O país do potencial travado em nome do ambiente. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 139, p. 14-23, set./out., 2013.

LANGLEY, B.; THOMAS, M.; BISHOP, A.; SHARMA, M.; GILMOUR, S.; KAMBADUR, R. Myostatin inhibits myoblast differentiation by down regulating MyoD expression. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.277, n. 51, p.49.831-49.840, set., 2002.

LEE, B.-Y.; LEE, W.-J.; STREELMAN, J. T., CARLETON, K. L.; HOWE, A. E.; HULATA, G.; SLETTAN, A.; STERN, J. E.; TERAJ, Y.; KOCHER, T. D. A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis spp.*). **Genetics**, Austin, v. 170, n.1, p. 237-244, maio, 2005.

LEE, C.-Y.; HUC, S.-Y.; GONG, H.-Y.; CHEN, M. H.-C.; LU, J.-K.; WUA, J.-L.. Suppression of myostatin with vector-based RNA interference causes a double-muscle effect in transgenic zebrafish. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Amsterdam, v.387, n.4, p.766–771, out., 2009.

- LEE, S. B.; KIM, Y. S.; OH, M-Y; JEONG, I-H; SEONG, K-B.; JIN, H-J. Improving rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth by treatment with a fish (Paralichthys olivaceus) myostatin prodomain expressed in soluble forms in *E. coli*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 302, n. 3-4, p. 270-278, abr., 2010.
- LIKONGWE, J. S.; STECKO, T. D.; STAUFER JR.; J. R.; CARLINE, R. F. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 146, n. 1-2, p.37-46, out., 1996.
- LOHNE, P.; IMSLAND, A. K.; LARSE, S.; FOSS, A.; PITTMAN, K. Interactive effect of photoperiod and temperature on the growth rates, muscle growth and feed intake in juvenile Atlantic halibut. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 187–197, jan., 2012.
- LUPCHINSKI JÚNIOR, E.; VARGAS, L.; POVH J. A.; RIBEIRO, R. P.; MANGOLIN, C. A.; LOPERA BARRERO, N. M. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 233-240, abr./jun., 2008.
- LUPCHINSKI JR., E.; VARGAS, L.; LOPERA-BARRERO, N. M.; RIBEIRO, R. P.; POVH, J. A.; GASPARINO, E.; GOMES, P. C.; BRACCINI, G. L. Caracterización genética de três líneas de tilapia Del Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 60, n. 232, dez., 2011.
- MARECO, E. A. **Efeitos da temperatura na expressão de genes relacionados ao crescimento muscular em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- MARENGONI, N. G. Produção de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem Chitralada), cultivada em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.55, n.210, p.127-138, jun., 2006.
- MASSAGO, H. **Desempenho de alevinos de quatro linhagens da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e análise da variabilidade genética pelos marcadores RAPD**. 2007. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual de Paulista, Jaboticabal, 2007.
- MASSAGO, H.; CASTAGNOLLI, N.; MALHEIROS, E. B.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; SANTOS, M. A.; RIBEIRO, R. P. Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias Ambientais**, São José dos Pinhais, v. 8, n. 4, p. 397-403, out./dez., 2010.
- MATSCHAK, T. W.; STICKLAND, N. C.; MASON, P. S.; CROOK, A. R. Oxygen availability and temperature affect embryonic muscle development in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Differentiation**, Londres, v. 61, n. 4, p. 229–235, maio, 1997.
- MATSCHAK, T. W.; HOPCROFT, T.; MASON, P. S.; CROOK, A. R.; STICKLAND, N. C. Temperature and oxygen tension influence the development of muscle cellularity in embryonic rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 53, n. 3, p.581-590, set., 1998.

- MELO, C. C. V. **Efeitos diretos e indiretos das medidas e razões morfométricas sobre os rendimentos corporais da tilápia do Nilo**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2012.
- MOREIRA, R. L.; SILVEIRA, L. P.; TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOURA, P. S.; FARIAS, W. R. L. Growth and gastrointestinal indices in Nile tilapia fed with different diets. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 223-229, jan./mar., 2012.
- MORO, G. V.; TORATI, L. S.; LUIZ, D. B.; MATOS, F. T. Monitoramento e manejo da qualidade da água em pisciculturas. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2013. p. 141-169.
- MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011**. Brasília: MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura, 2013, 60 p.
- MUENDO, P. N.; MILSTEIN, A.; DAM, A. A.; GAMAL, E.-N., STORVOGEL, J. J.; VERDEGEM, M. C. J. Exploring the trophic structure in organically fertilized and feed-driven tilapia culture environments using multivariate analyses. **Aquaculture Research**, Oxford, v.37, n.2, p. 151-163, fev., 2006.
- NAKAMURA, K. K. **Efeito do cultivo em hapas e viveiros escavados na biometria e análise genética de linhagens de tilápia do Nilo**. 2013. Trabalho de Estágio Curricular (Graduação em Zootecnia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2013.
- NACHTIGALL, P. G. **Perfil de expressão e organização genômica de MicroRNAs músculo-específicos na tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2012.
- NEBO, C.; PORTELLA, M. C.; CARANI, F. R.; ALMEIDA, F. L. A.; PADOVANI, C. R.; CARVALHO, R. F.; DAL-PAI SILVA, M. Short periods of fasting followed by refeeding change the expression of muscle growth-related genes in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v.164, n.4, p.268–274, abr., 2013.
- NEJEDLI, S.; KOZARIC, Z.; GAJGER, I. T.; MATASIN, Z. Relationships between length, body weight and histomorphology trunk muscles of Common Pandora (*Pagellus erythrinus* Lineatus, 1758). **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v.10, n.16, p. 2181-2185, 2011.
- NEVES, P. R.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; NATALI, M. R. M.; MAEHANA, K. R.; MARENGONI, N. G. Evaluation of the Performance of Two Strains of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) In Mixed Raising Systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.51, n.3: p.531-538, maio./jun., 2008.
- NOGUEIRA, A. J. **Aspectos da biologia reprodutiva e padrões de crescimento da tilápia *Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758, (linhagem Chitralada) em cultivos experimentais**. 2003. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2003.

OLIVEIRA, S. N.; RIBEIRO, R. P.; LOPERA, N. M.; CANDIOTO, F. B.; RESENDE, E. K.; LEGAT, A. P. Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 207-212, abr./jun., 2011.

OLIVEIRA, A. M. S. **Curvas de crescimento de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT**. 2013. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Unidade Universitária de Aquidauana, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana. 2013.

PAULA, T. G.; ALMEIDA, F. L. A.; CARANI, F. R.; VECHETTI-JÚNIOR, I. J.; PADOVANI, C. R.; SALOMÃO, R. A. S.; MARECO, E. A.; SANTOS, V. B.; DAL-PAI-SILVA, M. Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 169, p. 31-37, mar., 2014.

PERIAGO, M. J.; AYALA, M. D.; LÓPEZ-ALBORS, O.; ABDEL, I.; MARTÍNEZ, C.; GARCÍA-ALCÁZAR, A.; ROS, G.; GIL, F. Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, n. 1-4, p. 175-188, set., 2005.

PETERSEN, R. L.; GARCIA, J. E.; MELLO, G.; LIEDKE, M. R.; SINCERO, T. C. M.; GRISARD, E. C. Análise da diversidade genética de tilápias cultivadas no estado de Santa Catarina (Brasil) utilizando marcadores microssatélites. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 38, n.4, p.313-321, out./dez., 2012.

POGGERE, P. R. **Avaliação do desempenho produtivo e rendimento de filé de três linhagens de Tilápia (*Oreochromis niloticus*): Supreme, Chitralada e Bouaké**. 2009. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2009.

POPOUTSOGLOU; S. E.; TZIHA, G. Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentrations under recirculated conditions. **Aquacultural Engineering**, Londres, v. 15, n. 3, p. 181-192, maio, 1996.

RESCAN, P. Y. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, Oxford, v. 130, n. 1, p. 1-12, ago., 2001.

RIBEIRO, P. A. P.; ROSA, P. V.; VIEIRA, J. S.; GONÇALVES, A. C. S.; FREITAS, R. T. F. Perfil lipídico e composição química de tilápias nilóticas em diferentes condições de cultivo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n.1, p. 199-208, jan./mar., 2011.

RIDAH, M. T. Comparative study of growth performance of three strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L. at two stocking densities. **Aquaculture Research**, Oxford, v.37, n.2, p.172-179, fev., 2006.

ROCHA LOURES, B. T. R.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; MOREIRA, H. L. M.; SUSSEL, F. R.; POVH, J. A.; CAVICHIOLO, F. Manejo alimentar de alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), associado às variáveis físicas, químicas e biológicas do

ambiente. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 877-883, out./dez., 2001.

ROCHA, C. M. C.; RESENDE, E. K.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p. 4-6, ago., 2013.

RODRIGUEZ RODRIGUEZ, M. D. P. **Polimorfismos no gene do hormônio do crescimento associado a características de crescimento de tilápia do Nilo**. 2014. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá. 2014.

ROMANA-EGUIA, M. R. R.; DOYLEB, R. W. Genotype-environment interaction in the response of three strains of Nile tilapia to poor nutrition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 108, n. 1-2, p. 1-12, nov., 1992.

SANTIS, C.; GOMES, G. B.; JERRY, D. R. Abundance of myostatin gene transcripts and their correlation with muscle hypertrophy during the development of barramundi, *Lates calcarifer*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, Oxford, v. 163, n.1, p.101-107, set., 2012.

SANTOS, V. B.; FREATO, T. A.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V. R. Crescimento relativo e coeficientes alométricos de componentes do corpo de linhagens de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 357-364, out./dez., 2006.

SANTOS, V. B.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V.; FREATO, T. A.; ORFÃO, L. H.; MILLIOTI, L. C. Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 554-562, mar./abr., 2007.

SANTOS, A. I. **Interação genótipo-ambiente e estimativas de parâmetros genéticos em tilápias**. 2009. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SANTOS, V. B. ; YOSHIHARA, E.; MARECO, E. A.; FREITAS, R. T. F.. Muscle growth of two Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains. **Journal of Agricultural Science and Technology B**, Libertyville, v.2, n.11, p.1195-1202, nov., 2012.

SANTOS, V. B.; MARECO, E. A.; DAL PAI SILVA, M. Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 235-242, jul./set., 2013.

SEILIEZ, I.; SABIN, N.; GABILLARD, J.-C. Myostatin inhibits proliferation but not differentiation of trout myoblasts. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Limerick, v. 351, n.2, p. 220-226, abr., 2012.

SILVA, P. C.; KRONKA, S. N.; TAVARES, L. H. S.; SOUZA, V. L. Desempenho produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em diferentes densidades e trocas de água em “raceway”. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 935-941, out./dez., 2002.

SILVA, M. S. G. M. **Desenvolvimento de um sistema de recirculação com uso de Wetlands construídas para efluentes da piscicultura**. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n.3, p. 1076-1084, jun., 2002.

STOIBER, W.; HASLETT, J. R.; WENK, R.; STEINBACHER, P; GOLLMANN, H. P.; SÄNGER, A. M. Cellularity changes in developing red and white fish muscle at different temperatures: simulating natural environmental conditions for a temperate freshwater cyprinid. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 205, n. 16, p. 2349–2364, ago., 2002.

TORRANS, E. L. Effect of oxygen management on culture performance of Channel Catfish in earthen ponds. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 67, n.4, p. 275-288, 2005.

TRAN-DUY, A.; SCHRAMA, J. W.; VAN DAM, A. A.; VERRETH, J. A. J. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, n. 1-4, p. 152-162, mar., 2008.

TURKER, H.; EVERSOLE, A. G.; BRUNE, D. E. Filtration of green algae and cyanobacteria by Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in the Partitioned Aquaculture System. **Aquaculture**, Amsterdam, v.215, n. 1-4, p. 93-101, jan., 2003.

VALENTE, L. M. P.; ROCHA, E.; GOMES, E. F. S.; SILVA, M. W.; OLIVEIRA, M. H.; MONTEIRO, R. A. F.; FOUCONNEAU, B. Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 55, n.4, p. 675–691, out., 1999.

VIEIRA, V. P.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; LOPERA BARRERO, N. M. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em Maringá- PR. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 3, n.3, p. 19-26, jul./ago., 2005.

WATANABE, W. O.; LOSORDO, T. M.; FILTZSIMMONS, K.; HANLEY, F. Tilapia production systems in Americas: technological advances, trends and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n.3-4, p. 465-498, 2002.

WEBER, T. E.; BOSWORTH, B. G. Effects of 28 day exposure to cold temperature or feed restriction on growth, body composition, and expression of genes related to muscle growth and metabolism in channel catfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 246, n. 1-4, p. 483– 492, maio, 2005.

XI, L.; FEN, N.; ZHAN, Y.; YAN, H.-J. Enhanced hyperplasia in muscles of transgenic zebrafish expressing *Follistatin*. **Science China: Life Sciences**, Beijing, v. 54, n.2, p. 159-165, fev., 2011.

XU, C.; WU, G.; ZOHAR, Y.; DU, S.-J. Analysis of *myostatin* gene structure, expression and function in zebrafish. **The Journal of Experimental Biology**, London, v.206, n. 22, p.4067-4079, nov., 2003.

YAN, B.; GUO, J.-T.; ZHU, C.-D.; ZHAO, L.-H.; ZHAO, J.-L. miR-203b: a novel regulator of MyoD expression in tilapia skeletal muscle. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 216, n.3, p. 447-451, fev., 2013.

YI, Y. Modeling growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a cage-cum-pond integrated culture system. **Aquacultural Engineering**, Londres, v. 21, n. 2, p. 113-133, dez., 1999.

ZANONI, M. A.; CAETANO FILHO, M.; LEONHARDT, J. H. Performance de crescimento de diferentes linhagens de tilápia-do nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757), em gaiolas. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.22, n.3, p. 683-687, jul./set., 2000.

ZIMMERMANN, S. Incubação artificial: técnica permite a produção de tilápias-do-nilo geneticamente superiores. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 54, p. 15-21, 1999.

ZIMMERMANN, S. O bom desempenho das Chitraladas no Brasil. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 60, p. 15-19, jul.-ago. 2000.

ZIMMERMANN, S. Um moderno instrumental genético no melhoramento e na rastreabilidade de tilápias nilóticas. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 76, p. 69, mar./abr. 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Efeitos e interações a 5% de significância em cada parâmetro avaliado

Parâmetro	Variedade	Sistema	Biometria	Var*Sist	Var*Biom	Sist*Biom	Var*Sist*Biom
Peso	0,6583	<0,0001	<0,0001	0,1678	0,3221	<0,0001	0,0069
Altura da cabeça	0,8155	<0,0001	<0,0001	0,0004	0,0637	<0,0001	0,0079
Comprimento padrão	0,8759	<0,0001	<0,0001	0,0306	0,5128	<0,0001	0,102
Comprimento de tronco	0,7904	<0,0001	<0,0001	0,0283	0,449	<0,0001	0,0947
Comprimento da cabeça	0,9233	<0,0001	<0,0001	0,1464	0,0826	<0,0001	0,7966
Altura do corpo	0,0046	<0,0001	<0,0001	0,0075	0,0003	<0,0001	0,3335
Largura	0,0112	<0,0001	<0,0001	0,9067	0,0074	<0,0001	0,4627

Legenda: Var*Sist: Interação variedade x sistema de cultivo; Var*Biom: Interação variedade x biometria; Sist*Biom: Interação sistema de cultivo x biometria; e Var*Sist*Biom: Interação variedade x sistema de cultivo x biometria.

Fonte: O próprio autor

APÊNDICE B

Médias para Peso (g), Altcab (cm) e CP (cm)

	Peso (g)				Altura da cabeça (cm)				Comprimento padrão (cm)			
	GIFT		Supreme		GIFT		Supreme		GIFT		Supreme	
	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V
B1	4,08	7,81	3,70	5,75	1,61	1,93	1,47	1,76	4,75	5,91	4,63	5,49
B2	9,89	36,98	9,66	32,07	2,07	3,30	2,13	3,05	6,30	10,12	6,23	9,72
B3	37,96	208,94	53,64	185,30	3,11	5,72	3,65	5,22	9,75	17,41	10,97	16,62
B4	170,19	456,51	193,00	381,65	4,89	7,13	5,20	6,85	16,43	22,85	17,09	21,92

Legenda: Altcab: altura da cabeça, CP: comprimento padrão, B1: Biometria 1; B2: Biometria 2; Biometria 3; B4: Biometria 4; H: Hapas; e V: Viveiros escavados. Dados descritivos.

Fonte: O próprio autor

APÊNDICE C

Médias para Ctr (cm), Ccab (cm), Altcorp (cm) e Larg (cm)

	Comprimento do tronco (cm)				Comprimento da cabeça (cm)				Altura do corpo (cm)				Largura (cm)			
	GIFT		Supreme		GIFT		Supreme		GIFT		Supreme		GIFT		Supreme	
	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V	H	V
B1	3,05	3,89	2,95	3,54	1,7	2,02	1,68	1,95	1,85	2,27	1,72	2,02	0,62	0,71	0,57	0,65
B2	4,2	6,95	4,16	6,71	2,07	3,17	2,07	3,01	2,6	4,02	2,57	3,75	0,86	1,47	0,88	1,41
B3	6,75	12,81	7,56	11,81	3,00	4,6	3,41	4,81	3,74	6,76	4,24	6,33	1,04	1,65	0,99	1,62
B4	11,41	16,68	11,88	15,88	5,11	6,17	5,21	5,99	6,05	8,56	6,48	7,90	1,69	1,97	1,70	2,09

Legenda: Ctr: comprimento do tronco; Ccab: comprimento de cabeça; Altcorp: altura do corpo; Larg: Largura; B1: Biometria 1, B2: Biometria 2, Biometria 3, B4: Biometria 4, H: Hapas e V: Viveiros escavados. Dados descritivos.

Fonte: O próprio autor

APÊNDICE D

Comparação das médias na interação variedade x sistema

Variedade	Comprimento padrão (cm)		Comprimento do tronco (cm)		Altura do corpo (cm)	
	Sistema de cultivo		Sistema de cultivo		Sistema de cultivo	
	Hapas	Viveiros	Hapas	Viveiros	Hapas	Viveiros
GIFT	9,48 Ab	13,94 Aa	6,49 Ab	9,94 Aa	2,93 Ab	4,19 Aa
Supreme	9,55 Ab	13,48 Ba	6,51 Ab	9,56 Ba	2,94 Ab	3,80 Ba

Legenda: Médias seguidas de letra maiúscula diferentes na vertical indicam efeito da variedade em cada sistema de cultivo. Médias seguidas de letra minúscula diferentes na horizontal indicam efeito do sistema de cultivo em cada variedade.

Fonte: O próprio autor

APÊNDICE E

Médias para ganho em peso (g) por fase de cultivo

Fase	Variedade/Cultivo	PI (g)	PF (g)	GP (g)	GPD (g)
Alevino	GH	0,83	4,08	3,25	0,14
Alevino	SH	0,83	3,70	2,87	0,12
Alevino	GV	0,83	7,81	6,98	0,30
Alevino	SV	0,83	5,75	4,92	0,21
Juvenil	GH	4,08	9,89	5,81	0,22
Juvenil	SH	3,70	9,66	5,96	0,22
Juvenil	GV	7,81	36,98	29,17	1,08
Juvenil	SV	5,75	32,07	26,32	0,97
Crescimento	GH	9,89	37,96	28,07	0,45
Crescimento	SH	9,66	53,64	43,98	0,70
Crescimento	GV	36,98	208,94	171,96	2,73
Crescimento	SV	32,07	185,30	153,23	2,43
Engorda	GH	37,96	170,19	132,23	1,45
Engorda	SH	53,64	193,00	139,36	1,53
Engorda	GV	208,94	456,51	247,57	2,72
Engorda	SV	185,30	381,65	196,35	2,16

Legenda: GH: GIFT em hapas; SH: Supreme em hapas; GV: GIFT em viveiros; SV: Supreme em viveiros; PI: Peso inicial; PF: Peso final; GP: Ganho em peso; e GPD: Ganho em peso diário. Dados descritivos, não sendo submetidos à análise estatística.

Fonte: O próprio autor