

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NO
DESEMPENHO REPRODUTIVO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA DA
TILÁPIA-DO-NILO**

PEDRO LUIZ PUCCI FIGUEIREDO DE CARVALHO

**Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia
como parte das exigências
para obtenção do Título de
Mestre.**

**BOTUCATU – SP
JUNHO 2013**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NO
DESEMPENHO REPRODUTIVO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA DA
TILÁPIA-DO-NILO**

PEDRO LUIZ PUCCI FIGUEIREDO DE CARVALHO

Zootecnista

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato
Coorientador: Prof. Dr. Pedro de Magalhães
Padilha**

**Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia
como parte das exigências
para obtenção do Título de
Mestre.**

**BOTUCATU – SP
JUNHO 2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C331n Carvalho, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de, 1986-
Níveis de cálcio e fósforo disponível no desempenho reprodutivo e mineralização óssea da tilápia-do-Nilo / Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho. - Botucatu : [s.n.], 2013
vi, 56 f. : fots. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013
Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato
Coorientador: Pedro de Magalhães Padilha
Inclui bibliografia

1. Tilápia-do-Nilo. 2. Tilápia-do-Nilo - Nutrição. 3. Tilápia-do-Nilo - Reprodução. 4. Peixe - Reprodução. 5. Densitometria óssea. 6. *Oreochromis niloticus*. 7. Minerais na nutrição. I. Pezzato, Luiz Edivaldo. II. Padilha, Pedro de Magalhães. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Dedicatória

Aos meus pais

Robson Luiz Figueiredo de Carvalho

Marisa Pucci de Carvalho

*Pelo amor, carinho, apoio, e principalmente pelos exemplos de vida e
caráter*

Amo muito vocês

Ao meu irmão

Bruno Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Pelo carinho, amizade e amor que sempre nos uniu

Amo você

A minha namorada

Leticia Rocha Inamassu

Por ser tudo o que eu esperava de uma companheira para a vida toda

Te amo

Agradecimentos

Ao professor Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pela orientação, estímulo e amor à pesquisa, confiança, sensibilidade, grande amizade e principalmente pelo exemplo de humildade e caráter, características muito raras numa só pessoa.

À professora Dra. Margarida Maria Barros, pelo exemplo de dedicação, seriedade, compromisso com a pesquisa, valiosos ensinamentos dentro da sala de aula e para a vida, e, principalmente, pela amizade e ajuda.

Ao professor Dr. Pedro de Magalhães Padilha, pela co-orientação, amizade, comprometimento, auxílio nas análises químicas e é claro, amor pelo nosso Corinthians. Muito obrigado Xará.

A todos meus familiares, em especial, aos meus avós Teresa Figueiredo de Carvalho, Lúcia Pucci e Renato Pucci.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, por tornar esse sonho possível.

Aos meus amigos de pós-graduação do AquaNutri: Ademir Calvo Fernandes Jr., Caroline Pelegrina Teixeira, Eric Portilho Araujo, Felipe Tenório Cintra, Flávia Mota Damasceno, Jakeline Marcela Azambuja, João Fernando Albers Koch, João Vitor de Queiroz, Lara Genovez, Mariucha Karina Honório Ribeiro Rocha, Rafael Lopes da Silva, Renan Mattos Botelho e Vivian Gomes dos Santos, sempre dispostos a ajudar e dividir conhecimentos.

A todos os estagiários que passaram pelo Laboratório, ensinei e aprendi com eles.

Aos funcionários, técnicos, pós-graduandos, professores e amigos do Laboratório de Química do Instituto de Biociências, em especial à Cilene e José, pela ajuda e paciência.

Aos funcionários, técnicos, pós-graduandos, professores e amigos do Departamento de Reprodução e Radiologia da FMVZ, em especial ao Heraldo, pela ajuda e comprometimento.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia, em especial à Gisele, pelo auxílio e carinho.

Aos professores Heraldo César Gonçalves e Maria Márcia Pereira Sartori, pelo carinho, atenção e auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores da banca de qualificação, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, José Roberto Sartori e Margarida Maria Barros, pelas valiosas críticas e sugestões ao trabalho.

Aos professores da banca de defesa, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, João Batista Kochenborger Fernandes e Hamilton Hisano, pela análise cuidadosa, excelentes sugestões e críticas ao trabalho.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp - Botucatu Seila, Carlos e Aline, pela dedicação e incontáveis auxílios prestados.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro para a realização dos experimentos.

Aos moradores, agregados e IRMÃOS das repúblicas H.Romeu, H.Ro.frango e Turma da Sujeira: Johnny, Bahia, Calvinator, Dema, Cauê, Purê, Gilda, Kuririn, Ed, Panela, Betão, Sifodo, Candango, Cocs, Xucrão, Morma, Mimi, Saiyd, Kiwi, Pão, Dhal e Matis, pela amizade, alegria, companheirismo e bons momentos compartilhados.

Aos amigos de Louveira: Pato, Draga, Harry, Max, Nerd, Mini, Xicão, Cabeça, Vinagrão e Saku, sempre presentes apesar da distância, trazendo palavras de incentivo em minha jornada acadêmica e pessoal.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição de Aves, os famosos "frangos-d'água", principalmente ao Vitão e Carol e a Jú, pela amizade, ajuda e companheirismo.

A todos que de maneira direta ou indireta colaboraram de alguma forma para a realização desse trabalho fica o meu eterno agradecimento, muito obrigado.

Sumário

CAPÍTULO I.....	
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	
Considerações Iniciais	2
1. A tilápia	2
2. Aspectos gerais da reprodução da tilápia	3
3. Minerais na nutrição de peixes	5
3.1. Cálcio	7
3.2. Fósforo	8
3.3. Cálcio e Fósforo na reprodução de peixes	10
4. Tomografia computadorizada e densitometria óssea.....	13
5. Referências Bibliográficas.....	15
CAPÍTULO II.....	25
NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NO DESEMPENHO REPRODUTIVO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA DA TILÁPIA-DO-NILO	26
Resumo	26
Abstract.....	27
1. Introdução	28
2. Material e Métodos	29
2.1. Dietas experimentais	29
2.2. Manejo alimentar e reprodutivo	30
2.3. Coleta de amostras	30
2.4. Determinação da Disponibilidade de fósforo.....	31
2.5. Tomografia computadorizada e densitometria óssea	32
2.6. Análises químicas	33
2.7. Análises estatísticas	33
3. Resultados.....	34
4. Discussão	35
5. Referências Bibliográficas.....	42
Tabela 1	48
Composição das dietas experimentais (g/100 g MS) de fêmeas reprodutoras de tilápia.	48
Tabela 2	49
Características morfométricas e teores de Ca e P dos ovos de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis de Ca e P _{disp.}	49

Tabela 3	50
Desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis de Ca e P _{disp}	50
Tabela 4	51
Desempenho produtivo (g), volume ósseo (cm ³), densitometria (HU) e composição química dos ossos (%).	51
6. Figuras	52
Figura 1	52
Imagens tomográficas das regiões avaliadas em matrizes de tilápia-do-nilo submetidas a níveis de suplementação mineral: A (volume e densitometria das vértebras); B (volume e densitometria do crânio) e C (volume e densitometria total).	52
Figura 2	53
Imagens tomográficas A (0,21 – 0,14% Ca e P _{disp}); B (0,375 – 0,25% Ca e P _{disp}); C (0,75 – 0,50% Ca e P _{disp}) e D (1,50 – 1,00% Ca e P _{disp}) de matrizes de tilápia-do-nilo submetidas aos níveis de suplementação mineral.	53
CAPÍTULO III	54
IMPLICAÇÕES	54
Implicações	55

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Considerações Iniciais

1. A tilápia

As tilápias pertencem à ordem dos Perciformes, família Cichlidae, naturais do continente africano, Israel e Jordânia, sendo encontradas, principalmente, nas bacias dos rios Nilo, Níger, Tchade e nos lagos do Centro-Oeste africano (VERANI, 1980). Acredita-se que seu cultivo foi originado há 4 mil anos, aproximadamente mil anos antes do cultivo das carpas ser introduzido na China (BALARIN e HATTON, 1979). Porém, além das referências bíblicas e ilustrações egípcias, poucos dados confirmam as informações desses períodos.

Seu cultivo é realizado, principalmente, em países tropicais e subtropicais (MUNGUTI et al., 2006), tanto para melhorar a atividade pesqueira, como auxiliar o desenvolvimento da aquicultura (COWARD e BROMAGE, 2000). Dentre as espécies pertencentes à esse grupo, 22 destacam-se comercialmente: tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia-mossâmbica (*O. mossambicus*), a tilápia-azul (*O. aureus*), além de *O. macrochir*, *O. hornorum*, *O. galilaeus*, *Tilápia zillii*, *T. rendalli*, entre outras (EL-SAYED, 2006).

Até o início da década de 1980, a maioria dessas espécies com valor comercial pertencia ao gênero *Tilápia*, o qual incluem as espécies que desovam em substratos e não realizam a incubação oral dos ovos. Trewavas (1982) demonstrou haver diferença no comportamento reprodutivo entre espécies do gênero *Tilápia*, sugerindo a criação de outro gênero, denominado *Sarotherodon*, no qual o macho ou o casal realiza a incubação oral dos ovos. Em 1983, outros estudos do mesmo autor indicaram que dentro do gênero *Sarotherodon* existia diferença comportamental que justificaria a criação de um novo gênero, denominado *Oreochromis* e caracterizado pela incubação oral dos ovos pelas fêmeas.

Estes peixes constituem o segundo grupo de maior importância na aquicultura dulcícola mundial, precedido somente dos ciprinídeos, sendo o peixe mais produzido no Brasil, alcançando 95.091 toneladas em 2007 (FAO, 2007). A tilápia-do-nilo

(*Oreochromis Niloticus*) é uma das espécies mais cultivada no mundo, por apresentar características altamente desejáveis, como: rápido crescimento e rusticidade, resistência à altas densidades, diferentes sistemas de manejo e à doenças (CASTAGNOLLI, 1992). Além destas, as tilápias respondem bem às condições ambientais adversas (ALCESTE e JORRY, 1998).

Segundo Castagnolli (1992), sua carne possui excelente qualidade e boa aceitação no mercado consumidor. Por não apresentar espinhos em forma de “Y” em seu filé é apropriada para a indústria de filetagem (HILDSORF, 1995). Todas essas qualidades somadas ao fato de aceitar facilmente dietas artificiais desde o estágio larval fazem com que apresente grande potencial aquícola (ZIMMERMANN e FITZSIMMONS, 2004).

Em 1953 foi introduzida no estado de São Paulo a primeira espécie de tilápia no Brasil, a tilápia-do-congo (*Tilápia rendalli*). Na região Nordeste, em 1971, foram introduzidas a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e tilápia-de-zanzibar (*O. urolepis hornorum*) (CASTAGNOLLI, 1992) e devido ao seu potencial para a aquicultura, tiveram sua distribuição expandida nos últimos cinquenta anos (ZIMMERMANN e FITZSIMMONS, 2004).

2. Aspectos gerais da reprodução da tilápia

Segundo Lim e Webster (2006), as tilápias de importância comercial estão divididas em três principais grupos taxonômicos distintos, basicamente, pelo comportamento reprodutivo. Gênero *Tilápia*: os machos desse gênero constroem um ninho no substrato, atraem as fêmeas que depositam os óvulos, que são fecundados e incubados no substrato, ocorrendo intenso cuidado parental pelo macho, ou por ambos. No gênero *Oreochromis*, os machos constroem os ninhos para a desova e desenvolvem estruturas sexuais secundárias (TURNER e ROBINSON, 2000), as fêmeas depositam os ovos, que podem ser fecundados antes ou depois de armazenados na cavidade bucal da fêmea, onde são incubados. Já no gênero *Sarotherodon*, os ovos são incubados na boca do macho ou de ambos.

A espécie mais produzida e estudada no Mundo é a *Oreochromis niloticus*, ou tilápia-do-nilo, utilizada como base para produção de diversas linhagens voltadas ao maior desempenho produtivo (ZIMMERMANN e FITZSIMMONS, 2004). A tilápia-do-nilo representou cerca de 72,5% da produção mundial de tilápias cultivadas em 2010 (FAO, 2010). Outros comportamentos interessantes podem ser observados durante a reprodução, destacando-se o *sneaking behavior* ou comportamento furtivo apresentado por machos subordinados da espécie. Gonçalves-de-Freitas e Nishida (1998) descreveram tal comportamento. Consiste no processo de construção de ninho e realização da corte normal por parte do macho dominante, porém durante o ato da reprodução, postura dos ovos e fertilização dos mesmos pelo macho dominante, machos subordinados eventualmente participam do acasalamento, se colocando entre o casal, liberando seu esperma e fecundando parte dos ovos. Os mesmo autores sugerem que esses comportamentos possam fazer parte de estratégia para manutenção da variabilidade genética.

Além das estratégias reprodutivas, outros fatores influenciam a reprodução da tilápia: temperatura da água, intensidade da luz e fotoperíodo, qualidade da água, quantidade e qualidade do alimento (BRUMMETT, 1995). Pode atingir a maturidade sexual com peso em torno de 150 a 250g em condições naturais, embora alguns trabalhos mostrem tilápias cultivadas com peso médio de 30g aptas para reprodução (EL-SAYED et al., 2003). Assim como a maioria dos ciclídeos, a tilápia se reproduz de forma parcelada, apresentando várias desovas anuais e ciclos reprodutivos relativamente curtos.

Apresentam baixa fecundidade e ovos relativamente grandes (DUPONCHELLE e LEGENDRÉ, 1997), desovas variando entre 100 e 3000 ovos, com tamanho entre 2,0 e 7,9mm (DE GRAAF et al., 1999). Na maioria das espécies de tilápias, a fecundidade varia consideravelmente entre indivíduos da mesma espécie, inclusive entre indivíduos de tamanhos semelhantes (COWARD e BROMAGE, 1999). Ainda esses autores afirmam que a fecundidade e o tamanho dos ovos estão intimamente relacionados ao tamanho das matrizes, comprimento ou idade, porém com grande variabilidade e dessa forma, indivíduos menores produzem mais ovos devido aos menores intervalos entre desovas, se comparados à indivíduos maiores da espécie. Porém, fêmeas maiores produzem quantidade maior de ovos por desova, ovos maiores e com maior quantidade

de vitelo, o que, segundo Rana e Macintosh (1988) produz alevinos de maior tamanho, maior taxa de crescimento e maior resistência a condições ambientais severas. A linhagem, tamanho do peixe, densidade de estocagem, proporção macho/fêmea, estado nutricional, condições de cultivo e condições ambientais são fatores que influenciam o intervalo entre desovas nessa espécie (EL-SAYED, 2006).

Um dos principais problemas na criação de tilápias é a maturação e reprodução precoce, que podem ocorrer de três a seis meses de idade, dependendo da espécie, resultando em superpopulação nos viveiros de engorda, ocasionando assim, interrupção no crescimento, devido à concorrência por alimento e oxigênio (STICKNEY, 2000; BISWAS et al., 2005).

Algumas técnicas foram descritas para conter a superpopulação, entre elas: manipulação do estoque, cultivo da tilápia com peixe predador e criação monossexo (PHELPS e POPMA, 2000). A criação monossexo é a mais utilizada, existindo várias formas de seleção dos indivíduos, como por exemplo: sexagem manual (BISWAS et al., 2005), hibridização interespecífica (MAIR et al., 1991), manipulação genética (PHELPS e POPMA, 2000), reversão sexual por meio de hormônios sexuais (GALE et al., 1999) e produção de indivíduos super macho (YY) de *Oreochromis niloticus* (BEARDMORE et al., 2001). A produção monossexo de machos de tilápia, pela adição do hormônio 17 – α metiltestosterona na ração ofertada às larvas, é a que apresenta os melhores resultados para reversão sexual (PENMAM e McANDREW, 2000).

3. Minerais na nutrição de peixes

Minerais são elementos inorgânicos necessários aos animais para manutenção de várias funções metabólicas. Têm como principais funções, a estrutura de ossos, dentes e cartilagens, osmorregulação, impulsos e transmissões nervosas, contrações musculares, equilíbrio ácido-base corporal e regulação do pH do sangue e fluídos, catalisadores, ativadores e componentes de enzimas, vitaminas, hormônios e pigmentos respiratórios (JAUNCEY e ROSS 1982).

Os minerais podem ser subdivididos em macro e microminerais. Macrominerais são necessários em maiores concentrações para exercerem suas funções no organismo,

principalmente estruturais, destacando-se na nutrição de peixes o cálcio, cloro, magnésio, fósforo, potássio e sódio. Já os microminerais, ou minerais-traço, são necessários em menores concentrações e são componentes importantes de hormônios e enzimas. Dentre estes, destacam-se: crômio, cobre, iodo, ferro, manganês, selênio e zinco como os mais conhecidos dessa categoria. Outros microminerais são exigidos em quantidade tão baixas que a suplementação dietética não é necessária, dentre eles pode-se destacar o alumínio, cobalto, flúor, molibdênio, níquel, silício, vanádio (NRC, 2011).

A determinação das necessidades em minerais é complexa, pois além dos problemas usualmente encontrados nesse tipo de pesquisa, tais como a dificuldade de confecção de dietas totalmente isentas de minerais e mobilização desses elementos provenientes de reservas nos tecidos corporais, os peixes podem absorver minerais dissolvidos na água (LOVELL, 1998; MIRANDA et al., 2000b).

A absorção de minerais da dieta ou do meio aquático, além de sua excreção pela urina e fezes, são influenciados pelos processos osmorregulatórios em resposta à salinidade do meio aquático. Organismos de água doce e salgada diferem nesse aspecto, os de água doce são caracterizados por serem hiperosmóticos em relação ao meio, perdem íons para o meio continuamente através das brânquias, sendo a água absorvida passivamente, dessa forma esses organismos não bebem água, excretando grande quantidade de urina diluída. Já os organismos de água salgada são hiposmóticos em relação ao meio, perdem água para o mesmo, absorvendo íons monovalentes, de tal forma que devem beber água. O excesso de sais é excretado por células especiais das brânquias por transporte ativo, além da urina e fezes (NRC, 2011).

Dos minerais dissolvidos na água, os peixes podem suprir parte das exigências nutricionais de cálcio, magnésio, sódio, potássio, ferro, zinco, cobre, cobalto e selênio. Minerais como fósforo, cloro, enxofre, manganês e iodo, são absorvidos mais efetivamente de fontes alimentares (WATANABE et al., 1997).

O cálcio e o fósforo estão diretamente relacionados com o desenvolvimento e a manutenção do sistema esquelético e participam de numerosos processos fisiológicos (NRC, 1993). São os maiores constituintes da fração mineral dos ossos, sendo que o cálcio constitui 37% dos ossos, e o fósforo 16%. Fornecem estabilidade às vértebras por meio da fase sólida do fosfato de cálcio, e participam de diferentes processos fisiológicos incluindo a manutenção do equilíbrio ácido base (LALL e LEWIS-

MACCREA, 2007). Cálcio e fósforo estão estreitamente ligados, de tal forma que a deficiência ou o excesso de um interfere na apropriada utilização do outro (McDOWELL, 1992).

Estudos com animais monogástricos demonstraram a importância da relação cálcio e fósforo (Ca:P) da dieta. O aumento da quantidade de cálcio em relação ao fósforo nas dietas interfere na absorção do fósforo, assim como o aumento do fósforo nessa relação também pode restringir a absorção do cálcio. A relação Ca:P nas dietas de peixes não interfere de forma tão acentuada se comparada aos demais monogástricos, porém relação Ca:P foi relatada para o red sea bream (*Pagrus major*) e para a enguia japonesa (*Anguilla japonica*), sendo respectivamente, 1:2 e 1:1 (LALL e LEWIS-MACCREA, 2007). Já para juvenis de tilápia-do-nilo, a relação Ca:P_{disp} entre 1:1 e 1:1,5 foi a mais apropriada para normal crescimento e mineralização óssea dessa espécie (MIRANDA et al., 2000a).

3.1. Cálcio

A maior parte do cálcio encontrado no corpo dos peixes é proveniente do tecido esquelético e das escamas. Para peixes de escamas, de 20 a 40% do total de cálcio se apresenta na forma de escamas. Em jejum, o cálcio é mobilizado dos tecidos estruturais para realização de funções fisiológicas (LOVELL, 1998).

Ao contrário dos animais terrestres, não é por meio do esqueleto dos peixes que ocorrem os principais mecanismos de regulação do cálcio corporal. As brânquias fornecem acesso a fonte contínua de cálcio. Dessa forma, a regulação desse mineral ocorre por meio das brânquias, nadadeiras e tecidos epiteliais bucais. Após absorvido, é depositado nos ossos, escamas e pele. As escamas têm papel importante em seu armazenamento e metabolismo, sendo local de armazenamento de cálcio lábil, e a composição química das camadas ósseas das escamas é similar aos outros tecidos esqueléticos diferindo, fisiologicamente, em seu metabolismo (LALL e LEWIS-MACCREA, 2007).

Além de suas funções estruturais como componentes de ossos e escamas, o cálcio é essencial para coagulação sanguínea, funções musculares, impulsos e transmissões nervosas, osmorregulação e como cofator de vários processos enzimáticos.

Exerce papel importante na regulação iônica, pois influi na permeabilidade das membranas celulares, o que evita o fluxo difusivo e as altas perdas iônicas para a água (GONZAL et al., 1987). Embora sua exigência pelos peixes seja, parcialmente, atendida pela absorção das brânquias e da pele, é imprescindível sua suplementação nas rações (PEZZATO et al., 2004).

A absorção do cálcio dissolvido na água pode ser afetada por sua composição química e pelas características específicas das diferentes espécies (NRC, 1993). Dessa forma, esse elemento é absorvido mesmo quando disponível no alimento, sendo sua captação quantitativamente tão alta quanto a do alimento ingerido. Com baixos níveis de cálcio na água, o cálcio da dieta é mais aproveitado (STEFFENS, 1987; MIRANDA et al., 2000b).

Segundo Robinson et al. (1984) são necessários níveis entre 0,17 e 0,65% de cálcio na ração para que hajam melhores respostas de crescimento, conversão alimentar e composição dos ossos de peixes em águas livres de cálcio dissolvido. Robinson et al. (1987a) estudaram a exigência de cálcio para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) e para a tilápia-do-nilo. Os peixes foram mantidos em água livre de cálcio, impedindo sua influência na absorção dos peixes. Os autores recomendaram 0,45 e 0,70% de cálcio da dieta, para o bagre do canal e para a tilápia-do-nilo, respectivamente, para ótimo crescimento. O'Connell e Gatlin III (1994) obtiveram melhor crescimento e maiores concentrações de minerais nos ossos e escamas na tilápia-azul que foram mantidas em água com menos de 0,1g Ca/L e foram alimentadas com dietas purificadas suplementadas com 0,75% de Ca.

3.2. Fósforo

O fósforo é o macro mineral mais importante para os peixes em função de sua necessidade para o crescimento, metabolismo lipídico, mineralização óssea e reprodução. É importante constituinte corporal, representando 16% da estrutura óssea. Faz parte de processos bioquímicos como geração e transferência de energia, armazenamento de compostos fosforilados como ATP e fosfato de creatina (MARTINI, 2006) e fundamental para o metabolismo de nutrientes (LALL, 2002).

Esse elemento está presente na maioria das fontes alimentares, porém sua

disponibilidade varia com a origem dos alimentos (animal ou vegetal) e a fisiologia das diferentes espécies de peixes (PEZZATO et al., 2004). A maioria dos compostos naturais de fósforo não é hidrossolúvel, somente em ácidos. Dessa forma, existe diferença entre peixes com estômago (secreção ácida) e os que não os têm (HEPHER, 1993). Outros fatores também afetam a disponibilidade do fósforo: a relação Ca/P; interação com outros minerais como Ca, Zn, Cu, Mg, Co, Fe e Mn; Vitamina D₃; estágio fisiológico do animal; fonte e processamento do material e, principalmente, a presença e relação fósforo fítico/fitase (LALL, 2002).

Sua inclusão na dieta, para maioria dos peixes, varia entre 0,5 e 0,9% como fósforo disponível (WATANABE et al., 1988; MIRANDA et al. 2000a), sendo encontrado nos ácidos nucleicos, fosfolipídios e numa série de enzimas, uma vez que participa de importantes processos metabólicos. Devido ao fato de não ser eficientemente absorvido do ambiente externo, baixas concentrações nos corpos de água doce e marinha, além dos elevados níveis de exigência nutricionais impostos pelos sistemas intensivos de produção, existe a necessidade de suplementação por meio da dieta (MIRANDA et al., 2000b; FURUYA et al., 2001).

Segundo Watanabe et al. (1980), a exigência de fósforo para máximo crescimento e normal mineralização dos ossos pode ser menor que 0,90% na dieta da tilápia-do-nilo. Viola et al. (1986) recomendaram 0,70% de fósforo total na dieta dos híbridos de tilápia para normal crescimento dos adultos e níveis próximos de 1,00% de fósforo para crescimento ótimo de peixes mais jovens.

Estudos realizados com alevinos de tilápia-do-nilo recomendaram níveis ótimos de 0,50% de cálcio (MIRANDA et al., 2000b) e de fósforo entre 0,74 e 1,10% (fósforo disponível de 0,50 e 0,75%) (MIRANDA et al., 2000b; BOSCOLO et al., 2005; RIBEIRO et al., 2006 e PEZZATO et al., 2006). Para a fase de crescimento dessa espécie, Boscolo et al. (2003) concluíram que a suplementação de fósforo deve estar entre 0,35 e 0,70% de fósforo total, ou 0,52% de fósforo disponível (FURUYA et al., 2008). Haylor et al. (1988) estabeleceram o mínimo de 0,46% de fósforo disponível para ótimo desempenho de juvenis dessa espécie. Robinson et al. (1987b) constataram exigências de 0,30% de fósforo na dieta para desempenho produtivo e de 0,50% de fósforo para normal mineralização dos ossos em juvenis de tilápia-azul criada em águas livres de cálcio dissolvido. Já na fase de terminação (145 a 582g), Schamber (2008)

concluiu que a tilápia-do-nilo exige 0,66% de fósforo disponível (matéria natural) para o máximo desempenho.

3.3. Cálcio e Fósforo na reprodução de peixes

Os ovos de peixes são estruturas biológicas complexas e sua qualidade altamente variável, é afetada por inúmeros fatores: estado nutricional dos progenitores, estresse, indução hormonal para reprodução, genética, idade dos reprodutores, além da qualidade da água e fatores ambientais, como fotoperíodo, temperatura e salinidade (BROOKS et al., 1997; BOBE e LABBE, 2010). Dentre esses fatores, a nutrição dos reprodutores desempenha papel importante, pois os nutrientes necessários previamente à alimentação exógena das larvas são fornecidos pela progenitora e incorporados aos oócitos durante a vitelogênese (BROOKS et al., 1997).

Ácidos graxos, aminoácidos, fosfatos e o cálcio necessário na formação do embrião são obtidos por meio da molécula de Vitelogenina (Vtg), responsável pelo fornecimento da maior parte das proteínas do vitelo, como lipoproteínas e fosfoproteínas (SPECKER e SULLIVAN, 1994). Arukwe e Goksoyr (2003) relataram que a Vtg é uma fosfolipoglicoproteína ligada ao cálcio complexa e volumosa. Essa classificação indica os grupos funcionais cruciais que são transportados por essa molécula, isto é, lipídeos, carboidratos e grupos fosfato (MOMMSEN e WALSH, 1988; SILVERSAND e HAUX, 1995). Além disso, as propriedades de ligação de íons da Vtg atuam como importante fonte de minerais para os oócitos (ARUKWE e GOKSOYR, 2003).

Durante a vitelogênese, níveis elevados de componentes do soro, especialmente lipídeos, cálcio e fosfoproteínas, foram registrados em peixes (WALLACE, 1978). A ligação dessa molécula sintetizada no fígado ao cálcio torna-a solúvel, sendo transportada através do sistema circulatório até os ovários, onde é absorvida pelos oócitos e incorporada ao vitelo (HOAR et al., 1983). A vitelogenina origina as duas principais proteínas de vitelo, lipovitelina (Lv) e fosvitina (Pv) (WALLACE, 1985).

Outra etapa reprodutiva em que os minerais são importantes é a ativação dos ovos, que ocorre quando estes, fertilizados ou não, entram em contato com a água (BALLARD, 1973). A causa dessa ativação e/ou endurecimento tem sido identificada

como aumento transitório dos níveis intracelulares de cálcio livre, devido às diferenças físico-químicas entre os meios interno e externo (GILKEY 1983; GILKEY et al., 1978; COWARD et al., 2002). Esse processo causa uma série de complexas mudanças fisiológicas e morfológicas nos ovos, incluindo a entrada de água através do cório, causando o desprendimento da membrana vitelina e, conseqüentemente, dando origem ao espaço perivitelino. Além disso, ocorre polimerização cruzada de proteínas do cório causando seu enrijecimento, fechamento ou estreitamento da micrópila, estimulação metabólica, e, se o ovo foi fertilizado com sucesso, a continuação dos processos de meiose e embriogênese (BEMENT, 1992).

Além da ativação dos ovos, a sinalização intracelular de cálcio parece desempenhar papel importante nos estágios iniciais da embriogênese. Segundo Kindle et al. (1990), o cálcio pode estimular a captação de vitelogenina através do fluxo de entrada do cálcio e, possivelmente, saída do potássio, desempenhando papel importante na absorção dessa fosfolipoglicoproteína, e, conseqüentemente, no processo de vitelogênese como um todo.

O fósforo, assim como o cálcio, é um macromineral crucial para a manutenção e desenvolvimento do sistema esquelético, porém, ao contrário do cálcio, está presente em pequenas quantidades no ambiente aquático, fazendo com que os alimentos ingeridos pelos peixes sejam a principal fonte desse elemento (LALL, 2002). Esse mineral atua em importantes processos reprodutivos, de maneira direta e indireta. O fosfato inorgânico é necessário na síntese de ácidos nucleicos, síntese de ATP e glicólise (RAWN, 1983), sendo essa última, descrita como a mais importante fonte de energia para os ovos de peixes durante os estágios iniciais de desenvolvimento (TERNER, 1979). O sangue é um reservatório iônico desse elemento, de forma que a fosforilação de pequenas moléculas, tais como glicose, permite passar livremente através de membranas celulares anteriormente impermeáveis, sendo esse o primeiro passo no seu metabolismo (CRAIK, 1984).

Além da participação do fósforo nas estruturas celulares na forma de membranas fosfolipídicas, no metabolismo e transferência de energia na forma de ATP e outros fosfatos ricos em energia, a presença desse mineral na molécula de fosvitina exerce função importante na vitelogênese (CRAIK, 1984). Essa fosfoproteína é constituída por resíduos de serina, ligados covalentemente ao fosfato que, por sua vez, é ligado

ionicamente ao cálcio. Assim, a Pv fornece os minerais necessários para o desenvolvimento esquelético e funções metabólicas dos embriões (PATIÑO e SULLIVAN, 2002).

Segundo Sugiura et al. (2004), o rápido aumento de fósforo orgânico em gametas em desenvolvimento parece exigir níveis mais elevados de fósforo na dieta durante sua maturação. Contudo, conforme constatado para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) o conteúdo de fósforo nos ovários é menor do que em todo o corpo, sendo que os peixes podem necessitar menos fósforo para o desenvolvimento ovariano (durante a maturação) do que para o incremento de peso durante o crescimento somático (SHEARER, 1984). Portanto, a exigência de fósforo da dieta pode ser menor em reprodutores, se comparados a juvenis em fase de crescimento. Porém, devido às diversas mudanças que ocorrem nos reprodutores durante a reprodução, desenvolvimento e maturação gonadal, como mudanças na ingestão de alimentos e em processos metabólicos, principalmente no que diz respeito ao balanço hormonal, é difícil determinar as exigências de fósforo para essa categoria sem a realização de pesquisas (SUGIURA et al., 2004).

Watanabe et al. (1984a), em estudo com reprodutores de “red seabream” (*Pagrus major*), forneceram dietas à base de farinha de peixe suplementadas ou não suplementadas com esse mineral por sete meses. Os peixes alimentados com a dieta não suplementada de fósforo apresentaram baixa fecundidade, seus ovos e larvas apresentaram baixas taxas de eclodibilidade e altas taxas de deformidades, se comparados ao grupo que recebeu a dieta com suplementação. Apesar das diferenças no desempenho reprodutivo, o conteúdo de minerais nas vértebras e ovos dos peixes não diferiu (WATANABE et al., 1984b).

Lahnsteiner e Patarnello (2003) relataram a necessidade de níveis elevados de fosfato inorgânico para síntese de ácidos nucleicos, glicólise e ATP, em ovos viáveis de dourada (*Sparus aurata*). Em estudo com bacalhau-do-atlântico (*Gadus morhua* L.), observou-se que dentre os macronutrientes avaliados, o fósforo foi o único que apresentou correlação positiva com a fertilização e eclodibilidade dos ovos, confirmando sua importância no desenvolvimento embrionário (LANES et al., 2012).

4. Tomografia computadorizada e densitometria óssea

Os ossos são estruturas ricas em minerais, principalmente cálcio e fósforo, além de proteínas de colágeno, carboidratos e lipídeos. O tecido ósseo é importante depósito corporal de cálcio e fosfatos, exercendo dessa forma papel fundamental na regulação da concentração plasmática desses minerais (LALL, 2002).

Além da grande importância estrutural nos tecidos ósseos, esses minerais são fisiologicamente relevantes nos tecidos moles, podendo ser realocados dos ossos para outros tecidos, quando a dieta não atender às exigências nesses minerais (TOPPE et al., 2007). O tecido ósseo constitui parcela significativa do corpo dos peixes, sendo de 10 a 15% da biomassa total.

Técnicas podem ser empregadas na visualização e diagnóstico de problemas e patologias internas e nos ossos dos animais. Dentre algumas delas, destacam-se a radiografia computadorizada e digital direta, ultrassonografia, ressonância magnética e a tomografia computadorizada.

A tomografia computadorizada é uma técnica de diagnóstico por meio de imagens que utiliza a radiação X. Apresenta vantagem em relação à radiografia convencional, pois suas imagens apresentam caráter tomográfico, ou seja, permitem a obtenção de imagens seccionais ou em cortes, eliminando, portanto, o problema de perda de percepção de profundidade associada às radiografias. O aparelho emite um feixe de radiação laminar em forma de leque e de espessura fina, em um tubo de raios-X, que atravessa o material a ser avaliado, sensibilizando um conjunto de detectores que coletam o feixe de radiação residual. Os sinais obtidos pelos detectores são transmitidos para um dispositivo eletrônico na forma de correntes elétricas de pequena intensidade. Esse dispositivo transforma os sinais em dígitos de computador, permitindo medir a intensidade de radiação residual pela subtração da radiação absorvida pelo material e da radiação incidente (THRALL, 2007). Esse procedimento permite a determinação da densidade mineral óssea, quantificando a massa óssea em valores expressos em unidades Hounsfield (HU).

A tomografia computadorizada vem sendo utilizada com sucesso na avaliação da composição corporal de diversos animais de produção. Estudos foram realizados com aves, suínos, ovinos e caprinos (SKJERVOLD et al., 1981; VANGEN, 1988;

BENTSEN e SEHESTED, 1989; VANGEN e THOMPSON, 1992; JOPSON et al., 1994; LUITING et al., 1995; KOLSTAD e VANGEN, 1996; KOLSTAD et al., 1996; SZABO et al., 1999; KOLSTAD, 2001) e peixes (GJERDE, 1987; RYE, 1991; KACEM et al., 2000; ROMVÁRI et al., 2002; KOLSTAD et al., 2004; KOLSTAD et al., 2008), se destacando como ferramenta não invasiva.

Além da composição corporal dos animais, a técnica de tomografia computadorizada vem sendo utilizada na determinação de exigências nutricionais dos minerais envolvidos na formação da estrutura óssea de diversas espécies de animais, incluindo peixes (BAEVENFJORD et al., 1998; ROY et al., 2002; FONTAGNE et al., 2009; KOUSOULAK et al., 2010).

O capítulo II intitulado “Níveis de cálcio e fósforo disponível no desempenho reprodutivo e mineralização óssea da tilápia-do-nylo” teve como objetivo avaliar teores de cálcio e fósforo disponível em rações para fêmeas reprodutoras de tilápia-do-nylo, por meio de suas respostas de desempenho produtivo e mineralização óssea.

A redação desse capítulo foi realizada de acordo com as normas de publicação do periódico “Aquaculture”.

5. Referências Bibliográficas

ALCESTE, C.; JORRY, D. Análisis de las tendencias actuales en comercialización de tilápia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Union Europea. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1., 1998, Recife. **Anais...** Recife: SIMBRAQ, p.349, 1998.

ARUKWE, A.; GOKSOYR, A. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. **Comparative Hepatology**, v.2, p.1-21, 2003.

BAEVERFJORD, G.; ASGARD, T.; SHEARER, K.D. Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr and post-smolts. **Aquaculture nutrition**, v.4, p.1–11, 1998.

BALARIN, J.D.; HATTON, J.P. **Tilápia: A Guide to their Biology and Culture in Africa**. Stirling: University of Stirling, 1979. 174p.

BALLARD, W.W. Normal embryonic stages for salmonids fishes, based on *Salmo gairdneri* Richardson and *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). **Journal of Experimental Zoology**, v.184, p.7-25, 1973.

BEARDMORE, J.A.; MAIR, G.C.; LEWIS, R.I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilápia: applications, problems, and prospects. **Aquaculture**, v. 197, p.283- 301, 2001.

BEMENT, W.M. Signal transduction by calcium and protein kinase-C during egg activation. **Journal of Experimental Zoology**, v.263, 382-397, 1992.

BENTSEN, H.B.; SEHESTED, E. Computerised tomography of chickens. **British Poultry Science**, v.30, p.575–589, 1989.

BISWAS, A.K.; MORITA, T.; YOSHIZAKI, G.; MAITA, M.; TAKEUCHI, T. Control of reproduction in Nile tilápia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. **Aquaculture**, v. 243, p. 229– 239, 2005.

BOBE, J., LABBE, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.535–548, 2010.

BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; REIDEL, A.; BROLL, F.; HOLDEFER, A.M.; DOS SANTOS, R.V.; MARANHÃO, T.C.F. Exigência de fósforo da tilápia-do-nilo

(*Oreochromis niloticus*) na fase de crescimento. **Varia Scientia**, v.3, n.1, p.115-124, 2003.

BOSCOLO, W.G; FEIDEN, A; BOMBARDELLI, R.A; SIGNOR, A; GENTELINI, A.L; DE SOUZA, B.E. Exigência de fósforo para alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 27, n.1, p. 87-91, 2005.

BROOKS, S., TYLER, C.R., SUMPTER, J.P. Egg quality in fish, what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.387–416, 1997.

BRUMMETT, R.E. Environmental regulation of sexual maturation and reproduction in tilápia. **Reviews in Fisheries Science**, v. 3, p. 231-248, 1995.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. FUNEP, Jaboticabal, SP, 1992.

COWARD, K.; BROMAGE, N.R. Spawning periodicity, fecundity and egg size in laboratory-held stocks of a substrate-spawning tilapiine, *Tilápia zillii* (Gervais). **Aquaculture**, v.171, p.251–267, 1999.

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

COWARD, K., BROMAGE, N.R., HIBBITT, O.; PARRINGTON, J. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.12, p.33-58, 2002.

CRAIK, J.C.A. & HARVEY, S.M. Egg quality in rainbow trout - the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. **Aquaculture**, v.40, p.115-134, 1984.

DE GRAAF, G.J.; GALEMONI, F.; HUISMAN, E.A. Reproductive biology of pond-reared Nile tilápia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, v.30, p.25–33.1999.

DUPONCHELLE, F.; LEGENDRE, M. Influence of space structure on reproductive traits of *Oreochromis niloticus* females. In: Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilápia in Aquaculture. Fitzsimmons, K., ed. Orlando, FL, USA, 1997. p.305-314.

EL-SAYED, A.F.M. **Tilápia Culture**. CABI Publishing, Massachusetts, USA, 2006.

EL-SAYED, A.F.M., MANSOUR, C.R. & EZZAT, A.A. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. **Aquaculture**, v.220, p.619–632, 2003.

FAO. **Fisheries and aquaculture information and statistic service**: 2007: Global aquaculture production: 1950-2007. Disponível em: <<http://www.fao.org/figis>> Acesso em: 16 jul. 2009.

FAO. **Fisheries and aquaculture information and statistic service**: 2010: Global aquaculture production: 1950-2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/figis>> Acesso em: 10 fev. 2013.

FONTAGNÉ, S., SILVA, N., BAZIN, D., RAMOS, A., AGUIRRE, P., SURGET, A., ABRANTES, A., KAUSHIK, S.J., POWER, D.M. Effects of a dietary phosphorus and calcium level on growth and skeletal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. **Aquaculture**, v.297, p.141-150, 2009.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C. et al. Coeficiente de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.1407-1409, 2001.

FURUYA, W.M., FUJII, K.M., DOS SANTOS, L.D. et al. Exigência de fósforo disponível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia** , v.37, n.9, p.1517-1522, 2008.

GALE, W.L.; FITZPATRICK, M.S.; LUCERO, M.; CONTRERAS-SÁNCHEZ, W.M.; SCHRECK, C.B. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. **Aquaculture**, v. 178, p.349–357, 1999.

GILKEY, J.C., JAFFE, L.F., RIDGWAY, E.B., REYNOLDS, G.T. Free calcium wave traverses activating egg of medaka, *Oryzias latipes*. **Journal of Cell Biology**, v.76, p.448-466, 1978.

GILKEY, J.C. Roles of calcium and pH in activation of eggs of the medaka fish, *Oryzias latipes*. **Journal of Cell Biology**, v.97, p.669-678, 1983.

GJERDE, B.; MARTENS, H. Predicting carcass composition of rainbow trout by near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.104, p.137-148, 1987.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; NISHIDA, S.M. Sneaking behaviour of the Nile tilapia. **Boletim Técnico do CEPTA**, v.11, p.71–79, 1998.

GONZAL, A.C., ARALAR, E.V.; PAVICO, J.M.F. The effects of water hardness on the hatching and viability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) eggs. **Aquaculture**, 64: 111-118, 1987.

HAYLOR, G.S., BEVERIDGE, M. C. M., JAUNCEY, K. Phosphorus nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus*. In: R.S.V. Pullin. T. Bhukaswan, k. Tonguthai and J. L. Maclean (Editors), THE SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILÁPIA IN AQUACULTURE. ICLARM Conference Proceedings. 15, 623p. Department of Fisheries, Bangkok and ICLARM, Manila, pp.341-345, 1988.

HEPHER, B. **Nutrición de peces comerciales en estanques**. México: Ed. Limusa S.A. Primera Edición, 407p. 1993.

HILSDORF, A.W.S. Genética e cultivo de tilápias-vermelhas: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, p.73-84, 1995.

HOAR, W. S.; RANDALL, D.J. AND DONALDSON, E.M. **Fish physiology**. Vol. I. Excretion, Ionic regulation and metabolism, 1983. 465p.

JAUNCEY, K.; ROSS, B. A. **Guide to Tilapia Feeds and Feeding**. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, 111p., 1982.

JOPSON, N.B.; KOLSTAD, K.; VANGEN, O. In search of genetic variation in biological components of efficiency: examples from various species. In: 45TH MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR ANIMAL PRODUCTION, Edinburgh, UK. 8p. 1994.

KACEM, A.; GUSTAFSSON, S.; MEUNIER, F.J. Demineralization of vertebral skeleton in Atlantic salmon *Salmo salar* L. during spawning migration. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 125, p.479-484, 2000.

KINDLE, H.; LANZREIN, B. AND KUNKEL, J.G. The effect of ions, ion channel blockers and ionophores on uptake of vitellogenin into cockroach follicles. **Developmental Biology**, v.142, p.386-391, 1990.

KOLSTAD, K.; VANGEN, O. Genetic differences in maintenance efficiency when accounting for changes in body composition. **Livestock Production Science**, v.47, p.23– 32, 1996.

KOLSTAD, K.; JOPSON, N.B., VANGEN, O. Breed and sex differences in fat distribution and mobilisation in growing pigs fed at maintenance. **Livestock Production Science**, v.47, p.33–41, 1996.

KOLSTAD, K. Fat deposition and distribution measured by computer tomography in three genetic groups of pigs. **Livestock Production Science**, v.1, p.281–292, 2001.

KOLSTAD, K.; VEGUSDAL, A.; BAEVERFJORD, G.; EINEN, O. Quantification of fat deposits and fat distribution in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) using computerized X-ray tomography (CT). **Aquaculture**, v.229, p.255-264, 2004.

KOLSTAD, K.; MORKORE, T.; THOMASSEN, M.S. Quantification of dry matter % and liquid leakage in Atlantic cod (*Gadus morhua*) using computerized X-ray tomography (CT). **Aquaculture**, v.275, p.209-216, 2008.

KOUSOULAK, K.; FJELLDAL, P.G.; AKSNES, A.; ALBREKTSSEN, S. Growth and tissue mineralisation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed soluble P and Ca salts in the diet. **Aquaculture**, v.309, p.181-192, 2010.

LAHNSTEINER, F.; PATARNELLO, P. Investigations on the metabolism of viable and nonviable gilthead sea bream (*Sparus aurata*) eggs. **Aquaculture**, v.223, p.159 – 174, 2003.

LALL, S.P. The Minerals. In: Halver, J.E. & Hardy, R.W. Eds. **Fish Nutrition**, Third Edition, Elsevier Science (USA), p.259-308, 2002.

LALL, S.P.; LEWIS-MCCREA, L.M. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish — An overview. **Aquaculture**, v.267, p.3–19, 2007.

LANES, C.F.C.; BIZUAYEHU, T.T.; BOLLA S.; MARTINS C.; DE OLIVEIRA FERNANDES, J.M.; BIANCHINI, A.; KIRON, V.; BABIAK, I. Biochemical composition and performance of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) eggs and larvae obtained from farmed and wild broodstocks. **Aquaculture**, v.324-325, p.267-275, 2012.

LIM, C.; WEBSTER, C.D. **Tilapia: Biology, Culture and Nutrition**. An Imprint of the Haworth Press, New York. 678p. 2006.

LOVELL, R.T. **Nutrition and feeding of fish**, Second Edition, Auburn University, Auburn, Alabama. 267p. 1998.

LUITING, P.; KOLSTAD, K.; ENTING, H.; VANGEN, O. Breed comparison of body composition in pigs fed at maintenance. **Livestock Production Science**, v.43, p.225–234, 1995.

MAIR, G.C., SCOTT, A.G., PENMAN, D.J., SKIBINSKI, D.O.F., BEARDMORE, J.A. Sex determination in the genus *Oreochromis*: 2. Sex reversal, hybridization, gynogenesis and triploidy in *O. aureus* Steindachner. **Theory Applied Genetic** v. 82, p.153–160, 1991.

MARTINI, L.A. Cálcio e fósforo. In: Vannucchi, H; Cardoso, M.A. Eds. **Nutrição Humana**. Ed. Rio de Janeiro, RJ: Gaunabara koogan, v.1, p.219-236, 2006.

McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. Academic Press Limited, San Diego, California, 524p. 1992.

MIRANDA, E.C; PEZZATO, A.C; PEZZATO, L.E; GRANER, C.F; ROSA, G.J; QUINTERO-PINTO, L.G. Relação Cálcio/Fósforo Disponível em Rações para Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2162-2171, 2000a.

MIRANDA, E.C; PEZZATO, A.C; PEZZATO, L.E; FURUYA, W.M. Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.669-675, 2000b.

MOMMSEN, T.P., WALSH, P.J. Vitellogenesis and oocyte assembly. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), **The Physiology of Developing Fish: Part A. Eggs and Larvae**. Fish Physiology, vol. 11. Academic Press, London, 1988. p.347–406.

MUNGUTI, J.M.; LITI, D.M.; WAIDBACHER, H. et al. Proximate composition of selected potential feedstuffs for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) production in Kenya. **Die Bodenkultur**, v. 57, n.3, p. 131-141, 2006.

National Research Council (NRC). **Nutrient requirements of fish**. The National Academy of Sciences, Washington, DC, 1993, 114p.

National Research Council (NRC). **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academic Press, Washington, DC, 2011, 376p.

O'CONNELL, J. P. e GATLIN III, D. M. 1994. Effects of dietary calcium and vitamin D3 on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water. **Aquaculture**, v.125, p.107-117.

PATÍÑO, R., SULLIVAN, C.V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. **Fish Physiology and Biochemistry**. v.26, p.57–70, 2002.

PENMAN, D.J.; Mc ANDREW, B.J. Genetics for the management and improvement of cultured tilápia In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. **Tilápias: Biology and exploitation**. Kluwer Academic Pub, p.227-266. 2000.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M. Nutrição de Peixes. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: Aquabio, v.1, p.75-170, 2004.

PEZZATO, L.E; SANTA ROSA, M.J; BARROS, M.M; GOMES, I. Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia-do-nilo. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.600-605, 2006.

PHELPS, R.P.; POPMA, T.J. Sex reversal of tilápia. In: COSTA-PIERCE, B.A. e RAKOCY, J.E. **Tilápia aquaculture in the Americas**. v. 2. World Aquaculture Society, 2000. p. 34-59.

RANA, K.J.; MACINTOSH, D.J. A comparison of the quality of hatchery-reared *Oreochromis niloticus* fry. In: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K. and Maclean, J.L. (eds) **Proceedings of the Second International Symposium on Tilápia in Aquaculture**. ICLARM Conference Proceedings No. 15, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and ICLARM, Manila, Philippines, p. 497–502, 1988.

RAWN, J.D. **Biochemistry**. Harper and Row, Publishers, New York, 1983.

RIBEIRO, F.B.; LANNA, E.A.T.; BOMFIM, M.A.D.; DONZELE, J.L.; FREITAS, A.S.; SOUSA, M.P.; QUADROS, M. Níveis de fósforo total em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1588-1593, 2006.

ROBINSON, E.H.; RAWLES, S.D.; YETTE, H.E.; GREENE, L.W. An estimate of the dietary calcium requirement of fingerling *Tilápia aureus* reared in calcium-free water. **Aquaculture**, v.41, p.389–393, 1984.

ROBINSON, E. H., LaBOMASCUS, D., BROWN, P.B., LINTON, T.L. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis niloticus* reared in calcium-free water. **Aquaculture**. v.64, p.267-279, 1987a.

ROBINSON, E.H.; LABOMASCUS, D.; BROWN, P.B.; LINTON, T.L. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. **Aquaculture**, v.64, p.267–276, 1987b.

ROMVÁRI, R.; HANCZ, C.S.; PETRÁSI, Z.S.; MOLNÁR, T.; HORN, P. Non-invasive measurement of fillet composition of four freshwater fish species by computer tomography. **Aquaculture International**, v.10, p.231-240, 2002.

ROY, P. K.; WITTEN, P.E.; HALL, B.K.; LALL, S.P. Effects of dietary phosphorus on bone growth and mineralization of vertebrae in haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.27, p.35-48, 2002.

RYE, M. Prediction of body composition of Atlantic salmon by computerized tomography. **Aquaculture**, v.99, p.35-48, 1991.

SCHAMBER, C.R. **Exigência de fósforo para a tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) na terminação**. Maringá, PR: UEM, 2008, 32p. (Dissertação em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Brasil, 2008.

SHEARER, K.D. Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri*, associated with growth and reproduction. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.41, p.1592-1600, 1984.

SILVERSAND, C. AND HAUX, C. Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. **Journal of Comparative Physiology**, v.164, p.593- 599, 1995.

SKJERVOLD, H.; GRONSETH, K.; VANGEN, O.; EVENSEN, A. In vivo estimation of body composition by computerized tomography. **Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie**, v.98, p.77-79, 1981.

SPECKER, J. L.; SULLIVAN, C. V. "Vitellogenesis in fishes: status and perspectives, In: **Perspectives in Comparative Endocrinology**, K. G. Davey, R. E. 179 Peter, e S. S. Tobe, eds., Ottawa: National Research Council of Canada, 1994. p.304-315.

STEFFENS, W. **Principios fundamentales de la alimentación de los peces**. Editora Acribia. Zaragoza. 1987. 272p.

STICKNEY, R.R. Status of research on tilápia. In: COSTA-PIERCE, B.A. & RAKOCY, J.E. **Tilápia aquaculture in the Americas** v. 2. World Aquaculture Society, 2000. p. 21-33.

SUGIURA, S.H.; HARDY, R.W.; ROBERTS, R.J. The pathology of phosphorus deficiency in fish – a review. **Journal of Fish Disease**, v.27, p.255-265, 2004.

SZABO, C.; BABINSKY, L., VERSTEGEN, M.W.A., VANGEN, O., JANSMAN, A.J.M., AND KANIS, E. The application of digital imaging techniques in the in vivo estimation of the body composition of pigs: a review. **Livestock Production Science**, v.60, p.1-11, 1999.

TERNER, C., 1979. Metabolism and energy conversion during early development. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *The Physiology of Developing Fish: Part A. Eggs and Larvae*. **Fish Physiology**, vol. 8. London: Academic Press , 1979. p. 261–278.

THRALL, D. E. *Veterinary diagnostic radiology*. Editora Elsevier. North Carolina, 2007, 848p.

TOPPE, J.; ALBREKTSSEN, S.; HOPE, B.; AKSNES, A. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.146, p.395-401, 2007.

TREWAVAS, E. Genetic groupings of Tilapiiini used in aquaculture. **Aquaculture**, v. 27, p. 79-81. 1982.

TURNER, G.F.; ROBINSON, R.L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. **Tilápias: Biology and exploitation**. Kluwer Academic Pub., 2000. p. 33-58.

VANGEN, O. Experience from several years of using computer tomography (CT) in animal breeding research. In: 6TH WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, Helsinki, Finland. 12p. 1988.

VANGEN, O.; THOMPSON, J. The use of CAT-scanning to measure maintenance efficiency in genetic lines of sheep. In: **43rd Meeting of the European Association for Animal Production**, Madrid, Spain. 10p. 1992.

VERANI, J. R. Controle populacional em cultivo intensivo consorciado entre tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1757) e o tucunaré comum, *Cichla ocellaris* (SCHNEIDER, 1801) – aspectos quantitativos. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais). Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. Departamento de Ciências Biológicas. UFSCar. São Carlos, 1980. 116 p.

VIOLA, S.; ZOHAR, G.; ARIELI, Y. Phosphorus requirements and its availability from different sources for intensive pond culture species in Israel. Part 1. Tilápia. **Bamidgeh**. v.38, p.3-12, 1986.

WALLACE, R. A. Oocyte growth in non- mammalian vertebrates. **In the vertebrate ovary**, edited by Jones, R. E. New York: Plenum Corporation, 1978. p.465- 501.

WALLACE, R.A. Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In: **Developmental Biology**. Edited by L.W. Browder. New York: Plenum Press, 1985. p. 127– 177.

WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; MURAKAMI, A.; OGINO, C. The availability to *Tilapia nilotica* of phosphorus in white fish meal. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.46, p.897–899, 1980.

WATANABE, T.; ARAKAWA, T.; KITAJIMA, C.; FUJITA, S. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.50, p.495-501, 1984a.

WATANABE, T.; OHHASHI, S.; ITOH, A.; KITAJIMA, C.; FUJITA, S. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.50, p.503-515, 1984b

WATANABE, T.; SATOH, S.; TAKEUCHI, T. Availability of minerals in fish meal to fish. **Asian Fisheries Science**, v.1, p.175–195, 1988.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace mineral in fish nutrition. **Aquaculture**, v. 151, p.185–207, 1997.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. **Tilapicultura intensiva**. In: CYRINO, J.E.P. et al. Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva. São Paulo: Aquabil, v.1, p.239-266, 2004.

CAPÍTULO II

NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NO DESEMPENHO REPRODUTIVO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA DA TILÁPIA-DO- NILO

NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO DISPONÍVEL NO DESEMPENHO REPRODUTIVO E MINERALIZAÇÃO ÓSSEA DA TILÁPIA-DO-NILO

Resumo - A tilapicultura é a atividade aquícola que mais cresce no mundo, aumentando a demanda por larvas e alevinos a cada ano. Isso faz com que o desempenho reprodutivo assuma papel fundamental para o sucesso dessa atividade. O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar teores de cálcio e fósforo disponível em rações para fêmeas reprodutoras de tilápia-do-nilo, por meio de suas respostas de desempenho produtivo e mineralização óssea. Foram confeccionadas quatro rações isoproteicas e isoenergéticas (32,5% PD e 3300 kcal ED kg⁻¹ ração), com níveis de 0,21-0,14%; 0,37-0,25%, 0,75-0,50%, 1,50-1,00% de Ca e P_{disp}, respectivamente, mantendo relação Ca e P de 1,50:1,00. Foram utilizadas 36 fêmeas e 12 machos reprodutores (peso médio de 150 g), distribuídos em quatro aquários de 1000 litros de capacidade útil, na densidade de 9 fêmeas/3 machos/aquário, alimentados duas vezes ao dia, por 180 dias. Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) nos parâmetros morfométricos dos ovos, teores de cálcio e fósforo dos mesmos, desempenho zootécnico e reprodutivo das matrizes, exceto pela taxa média de eclosão de ovos, beneficiada pela dieta com nível mais elevado de Ca e P_{disp}. Os parâmetros de mineralização óssea foram afetados pelos níveis de minerais nas dietas (P<0,05). Nos machos, o volume do crânio, densitometria das vértebras, crânio e total, além dos teores de Ca e P nos ossos foram significativamente maiores nos peixes do tratamento com maior nível de inclusão desses minerais. Nas fêmeas, o volume das vértebras, crânio e total, assim como a densitometria do crânio e os teores de Ca e P nos ossos foram significativamente maiores nos animais que receberam a dieta com maiores níveis desses minerais. Conclui-se que níveis de 1,50-1,00% de Ca e P_{disp}, respectivamente, na dieta de reprodutores de tilápia-do-nilo garantem melhor mineralização óssea e maiores taxas de eclodibilidade dos ovos.

Palavras-chave: nutrição, minerais, reprodução, *Oreochromis niloticus*, densitometria óssea, tomografia computadorizada.

LEVELS OF CALCIUM AND AVAILABLE PHOSPHORUS ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE AND BONE MINERALIZATION OF NILE TILÁPIA

Abstract – Tilápia culture is growing rapidly all over the world, thus the demand for larvae and fingerlings increases every year, causing the reproductive performance takes key role in the success of this activity. The present study was conducted to evaluate calcium and available phosphorus in diets for reproductive female Nile tilápia, through their reproductive performance and bone mineralization. Four isonitrogenous and isoenergetic (32.5% PD and 3300 kcal kg⁻¹) diets were formulated, with levels of 0.21-0.14%, 0.375-0.25%, 0.75-0.50%, 1.50-1.00% of calcium (Ca) and disponible phosphorus (P_{disp}), respectively. 36 females and 12 males (average weight 150 g) were distributed in four tanks with 1000 liters of capacity, in a density of 9 females and 3 males per aquarium, were fed twice a day for 180 days. There were no significant differences ($P > 0.05$) in morphometric parameters, calcium and phosphorus of the eggs. Egg hatchability were benefited from the diet with the highest level of Ca and P_{disp}. The parameters of bone mineralization were affected by the levels of minerals in the diet ($P < 0.05$). In males, the volume of the skull, densitometry of the spine, skull and total body, besides the content of Ca and P in bone, were significantly higher at higher inclusion levels of these minerals. In females, the volume of the vertebrae, skull and total body, as well as the density of the skull and the Ca and P in bone were significantly higher in animals fed the diet with higher levels of these minerals. We conclude that levels of 1.50-1.00% Ca and P_{disp}, respectively, in the diet of Nile tilápia broodstock, provides better bone mineralization and higher rates of egg hatchability.

Keywords: nutrition, minerals, reproduction, *Oreochromis niloticus*, bone densitometry, computerized tomography

1. Introdução

A tilapicultura é a atividade aquícola que mais cresce no Mundo. Nas últimas quatro décadas, a produção de tilápia cultivada passou de 107.459 t para 3.957.949 t em 2011 (FAO, 2013), com previsão de exceder 8.900.000 t em 2020 (Tacon e Metian, 2008). Cerca de 70% desses valores são referentes à tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus*, destacando sua importância no cenário mundial.

Esse crescimento se deve, principalmente, às mudanças nos sistemas de produção, de forma que os modelos tradicionais e semi-intensivos foram substituídos pela produção intensiva. A rápida expansão da tilapicultura aumenta a demanda por larvas e alevinos, assim como a necessidade por alimentos balanceados. Portanto, a formulação de dietas adequadas aos reprodutores, com o objetivo de otimizar o desempenho reprodutivo e produção de alevinos de melhor qualidade, é fator chave para atender à essa demanda crescente (El-Sayed e Kawanna, 2008).

A nutrição dos reprodutores é reconhecida como o principal fator capaz de influenciar o desempenho reprodutivo e, subsequente qualidade larval de várias espécies de peixes (Izquierdo et al., 2001), incluindo a tilápia-do-nilo (Bhujel et al., 2001; El-Sayed et al., 2003; El-Sayed, 2006; El-Sayed e Kawanna, 2008; Ng e Wang, 2011). Por meio da dieta, são fornecidos aos reprodutores todos os nutrientes e energia necessários para o desenvolvimento gonadal e, no caso das fêmeas, formação do vitelo, principal fonte de nutrição para o desenvolvimento embrionário dos peixes (Gunasekera et al., 1996).

Atualmente, as informações sobre as exigências nutricionais para reprodutores de tilápia, especialmente no que se refere à nutrição mineral, são escassas. Segundo Watanabe et al. (1997), os minerais são essenciais para a reprodução de peixes, devido às suas funções no metabolismo. Dentre os minerais, o cálcio e fósforo são fundamentais para o desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético, além de participarem em numerosos processos fisiológicos (NRC, 1993). Na reprodução, o fósforo atua como componente da fosfolipoglicoproteína Vitelogenina, molécula responsável pela formação e acúmulo do vitelo. Suas propriedades de ligação a íons, principalmente ao cálcio, a tornam importante fonte desses minerais, necessários para o desenvolvimento esquelético e funções metabólicas dos embriões (Patiño e Sullivan,

2002). O fósforo inorgânico também está presente na síntese de ácidos nucleicos, síntese e transferência de energia (ATP) e estrutura celular, como membrana fosfolipídica. Participa do processo de glicólise, caracterizado como a mais importante fonte de energia para os embriões de peixes (Turner, 1979; Rawn, 1983). O cálcio, além de essencial na osmorregulação e como cofator de vários processos enzimáticos, atua no processo de ativação e endurecimento dos ovos. Sua ligação com a vitelogenina torna essa molécula solúvel, fazendo com que seja transportada pelo sistema circulatório até os ovários, onde é absorvida pelos oócitos e incorporada ao vitelo (Hoar et al., 1983).

Muitos problemas encontrados durante o desenvolvimento dos ovos estão diretamente relacionados com o regime alimentar dos reprodutores. Dessa forma, técnicas de manejo e nutrição visando melhorar os parâmetros reprodutivos de matrizes de tilápia devem ser estudadas (El-Sayed et al., 2003). Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar teores de cálcio e fósforo disponível em rações para reprodutores de tilápia-do-nilo, por meio de suas respostas de desempenho reprodutivo e mineralização óssea.

2. Material e Métodos

2.1. Dietas experimentais

Foram formuladas quatro rações isoprotéicas (32,5% de PD) e isoenergéticas (3300 kcal de ED/kg de ração), conforme recomendação de Bhujel et al. (2001), Pezzato et al. (2004), Bombardelli et al. (2010) e Furuya (2010). Estas rações (Tabela 1) constituíram os tratamentos experimentais mantendo a relação $\text{Ca:P}_{\text{disp}}$ de 1,5:1,0, e níveis de cálcio e fósforo disponível em cada dieta, respectivamente: tratamento-I (0,21 - 0,14%); tratamento-II (0,375 - 0,25%); tratamento-III (0,75 - 0,50%); e tratamento-IV (1,50 - 1,00%). Foram utilizados, como fonte dos minerais estudados, fosfato bicálcico e calcário calcítico. Todas as dietas foram acrescidas de 1,0 g kg⁻¹ de Cr₂O₃ para determinação do coeficiente de disponibilidade aparente do fósforo.

Os ingredientes selecionados para compor as dietas foram submetidos a análises bromatológicas conforme metodologia da AOAC (1995). Estes ingredientes foram

moídos (peneira *Tyler-32*) para atingir diâmetro geométrico médio (DGM) de 0,5 mm. A mistura foi homogeneizada e submetida ao processo de peletização, produzindo grânulos com DGM de 5,0 mm. Após resfriamento, os grânulos foram secos em estufa com circulação de ar a 55,0 °C/24 h, e posteriormente armazenados (-20,0 °C).

2.2. Manejo alimentar e reprodutivo

Foram utilizados reprodutores de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* (linhagem Chitralada), obtidos na Piscicultura Fernandes (São Paulo, Brasil) e aclimatados às condições laboratoriais por quatro semanas. Previamente ao início do período experimental, os peixes foram marcados com microchips (*AnimallTag*[®]), inserido nos animais entre a quarta e quinta espinha dorsal. Um tanque circular com capacidade de 1000L foi utilizado para cada grupo reprodutivo alimentado com sua respectiva dieta. Cada tanque recebeu nove fêmeas (peso médio inicial, 120,6 ± 10,2 g) e três machos (peso médio inicial, 150,2 ± 20,3 g). Nove abrigos plásticos em formato cilíndrico foram alocados no fundo dos tanques, fornecendo abrigo e local adequado para ocorrência dos eventos reprodutivos. Foi fornecida aeração e circulação contínua de água para todos os tanques de criação. Os peixes foram arraçoados manualmente duas vezes ao dia (8000 e 1700 h) na proporção de 1% da biomassa (Bhugel, 2000) por 25 semanas. Todos os peixes foram pesados individualmente a cada três semanas.

2.3. Coleta de amostras

As triagens foram realizadas duas vezes por semana, durante todo o período experimental, inclusive no período de aclimação, para que se adaptassem ao manejo reprodutivo. As fêmeas incubando ovos foram cuidadosamente manejadas e os ovos removidos da cavidade bucal. Os ovos foram contados individualmente, e o volume total foi aferido por meio de proveta volumétrica e amostras de 1,0 ml fixadas em formol 10,0% para posterior avaliação características morfométricas: diâmetro maior, diâmetro menor, diâmetro médio (com auxílio de paquímetro digital), além do peso úmido dos ovos (com o auxílio de balança de precisão de quatro casas decimais).

Após 13 semanas de experimento, quatro desovas foram coletadas das fêmeas de cada tratamento, para a realização do ensaio de eclodibilidade. Uma fração de cada desova foi separada para mensuração das características morfométricas e químicas, e o restante foi contado e disposto em incubadoras, com sistema de recirculação de água, simulando os movimentos naturais de incubação bucal das fêmeas e temperatura controlada ($27 \pm 0,5$ °C).

Foram avaliados os seguintes parâmetros reprodutivos das fêmeas: tempo médio de retorno à desova; número médio de desovas por fêmea; número total de ovos por fêmea/tratamento, além da porcentagem de cálcio e fósforo nos ovos e taxa de eclodibilidade dos mesmos. Os valores de ganho de peso e ganho de peso médio diário foram calculados mediante pesagem dos animais individualmente no início e término do período experimental, e posterior divisão desse ganho pelo total de dias de experimento.

Finalizado o período reprodutivo, foi realizado o ensaio de disponibilidade do fósforo. Após essa etapa, os peixes foram eutanaziados por super dosagem de anestésico, utilizando-se benzocaína na concentração de 10g do anestésico/15L de água. Após dessensibilização e morte, os animais foram identificados e armazenados em freezer a -20°C para coleta da coluna vertebral de oito peixes por tratamento (quatro machos e quatro fêmeas) para quantificação do cálcio e fósforo nos ossos. Os peixes foram descongelados em forno micro-ondas, as vértebras foram separadas, lavadas com água destilada para remoção da matéria orgânica e desengordurada em éter por 24 horas e hexano por 2 horas, segunda a metodologia adaptada de Shearer (1984).

2.4. Determinação da Disponibilidade de fósforo

Ao final do período experimental (25 semanas) foram coletadas fezes para determinação da disponibilidade do fósforo das rações experimentais. As coletas foram realizadas nos próprios aquários de reprodução. Esses eram limpos no período da tarde, após a última alimentação diária, e na manhã do dia subsequente eram coletadas as fezes decantadas. A quantidade de ração fornecida foi a mesma do período reprodutivo e foram realizadas três coletas de fezes.

As fezes contendo óxido de cromio-III foram armazenadas em freezer a -20°C para posteriores análises de disponibilidade dos minerais. Os coeficientes de

disponibilidade aparente (CDa) dos minerais das dietas referência e experimentais foram calculados de acordo com a equação descrita por Nose (1960):

$$CDa(\%) = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Em que:

CDa = coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%Cr₂O_{3r} = percentagem de óxido de crômio na ração;

%Cr₂O_{3f} = percentagem de óxido de crômio nas fezes;

%N_f = percentagem de nutriente nas fezes;

%N_r = percentagem de nutriente na ração.

2.5. Tomografia computadorizada e densitometria óssea

As análises tomográficas e de densitometria óssea foram efetuadas em oito peixes por tratamento (quatro peixes de cada sexo), submetidos à tomografia computadorizada multi-detectores, (Shimadzu, modelo SCT-780 CT) seguindo os parâmetros: 350mm de campo de visão (FOV), Algoritmo 120kv, 60mA, intervalo de corte de 2mm e 1mm de espessura de corte. Cortes tomográficos dos animais mostraram imagens dos ossos do corpo e coluna vertebral na posição de decúbito lateral direito e proporcionaram medidas quantitativas da densidade mineral óssea e permitindo diagnóstico de alterações da estrutura óssea para comparação entre tratamento.

Segundo Thrall (2007), a tomografia computadorizada permite medir a intensidade da radiação residual por meio da subtração da radiação absorvida pelo material, da radiação incidente, e pode ser obtida de acordo com a equação:

$$N = N_0 \cdot e^{-(\mu)x}$$

Sendo:

N = intensidade de radiação residual

N_0 = intensidade de radiação incidente

E = base de logaritmo natural (2,718)

μ = coeficiente de atenuação linear

x = espessura do objeto analisado

A quantidade de equações utilizadas para a reconstrução de uma imagem pode variar, aumentando em função do número de detectores do equipamento, além do número de projeções utilizadas nessa reconstrução, que faz uso de método matemático denominado algoritmo, a razão entre o deslocamento da mesa pela espessura de corte é representada pelo Pitch e a área examinada pela tomografia referente ao campo de visão é denominada FOV (Thrall, 2007). As regiões utilizadas na determinação do volume e densitometria óssea no presente estudo (crânio, vértebras e total) são demonstradas na Figura 1.

2.6. Análises químicas

O teor de óxido de cromo-III, cálcio e fósforo nas rações, fezes, ovos e ossos foram quantificados por espectrometria de absorção atômica após digestão ácida, segundo as metodologias de Ramirez-Munoz (1968) e Markzent (1976).

2.7. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de homogeneidade e normalidade e à análise de variância (ANOVA) para determinar os efeitos dos níveis de suplementação mineral no crescimento, desempenho reprodutivo, características químicas e morfométricas dos ovos e mineralização óssea dos reprodutores. Diferenças entre médias eram consideradas significativas ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey (Stell e Torrie, 1984). As variáveis que não seguiram distribuição normal foram avaliadas pelo

teste de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (SAS ver. 8.2).

3. Resultados

Os parâmetros de qualidade de água temperatura, pH, oxigênio dissolvido e amônia se mostraram adequados de acordo com a faixa de conforto para a espécie (Boyd e Tucker, 1998), atingindo valores médios de $26,0 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$; $7,8 \pm 0,3$; $5,5 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,02 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) nos parâmetros morfométricos e nos teores de cálcio e fósforo dos ovos (Tabela 2). Pôde-se observar diferença significativa na taxa média de eclosão, apresentando melhor desempenho nos peixes arraçoados com a dieta com os níveis mais elevados desses minerais (1,50 – 1,00%) (Tabela 3). Não ocorreram diferenças significativas nos demais parâmetros reprodutivos ($P > 0,05$).

As variáveis ganho de peso e ganho de peso médio diário não revelaram diferenças significativas para machos e fêmeas dos tratamentos, assim como o volume das vértebras das fêmeas (Tabela 4). Nas matrizes, as variáveis volume e densitometria do crânio e densitometria total dos ossos apresentaram diferenças significativas entre os peixes alimentados com as dietas correspondentes aos tratamentos com maior e menor suplementação dos minerais-teste 1,50 – 1,00% e 0,21 – 0,14%, respectivamente. Para a variável densitometria das vértebras, os animais que receberam dietas com os dois maiores níveis de suplementação 0,75 – 0,50% e 1,50 – 1,00% diferiram daqueles suplementados com os menores níveis dos minerais-teste 0,21 – 0,14%.

Houve diferença significativa nos teores de cálcio nos ossos das matrizes do tratamento 0,21 – 0,14% em relação aos demais tratamentos, ocorrendo elevado teor desse mineral nos ossos dos peixes que receberam dietas com níveis de suplementação mineral superiores, e elevado teor de fósforo nos ossos dos peixes correspondentes aos tratamentos intermediários (0,375 – 0,25% e 0,75 – 0,50%), seguidos pelos animais que receberam maior nível de suplementação e por último, aqueles com o menor nível de suplementação dos minerais teste.

Nos machos, ocorreram diferenças semelhantes às das fêmeas. A variável volume das vértebras apresentou resultados superiores nos peixes dos tratamentos com maior suplementação de cálcio e fósforo 0,75 – 0,50% e 1,50 – 1,00% se comparados aos animais provenientes do tratamento com menor nível de suplementação. Os parâmetros de volume e densitometria do crânio, além do volume ósseo total, apresentaram diferenças significativas apenas entre os peixes correspondentes ao tratamento com maior nível de suplementação e os reprodutores que receberam dietas com os menores níveis.

A composição mineral dos ossos dos machos também diferiu entre tratamentos ($P < 0,05$), observando-se correlação direta entre os níveis de cálcio nos ossos em função do aumento da suplementação dietária dos minerais teste. Já o fósforo, diferiu apenas entre os reprodutores do tratamento com menor nível de suplementação e os peixes correspondentes ao tratamento com maiores níveis da mesma.

As imagens A, B, C e D obtidas por meio de tomografia computadorizada mostram alterações na estrutura óssea dos peixes, de acordo com os níveis de suplementação de cálcio e fósforo nas dietas. É possível observar nas imagens A e B (0,21 – 0,14% e 0,375 – 0,25% de Ca e P_{disp} , respectivamente) os principais sítios de mobilização mineral na região do crânio. Observou-se, também, maior volume ósseo em todas as áreas do corpo dos peixes à medida que os níveis de suplementação mineral aumentaram (Figura 2).

4. Discussão

A evolução das estratégias reprodutivas das tilápias, sobretudo os gêneros com incubação bucal como *Oreochromis* e *Sarotherodon* baseadas num alto grau de cuidado parental, permitiu que, diferentemente de outros teleósteos, fossem produzidos ovos de maior tamanho e em menor quantidade. O tamanho dos ovos nesse grupo de peixes é espécie – específico.

Entretanto, existem evidências que indicam ovos de maior diâmetro sendo produzidos por fêmeas maiores e mais pesadas (Trewavas, 1982). Por outro lado, Rana e Macintosh (1988) consideram que os fatores preponderantes na determinação do

tamanho dos ovos ainda são desconhecidos e que a idade das fêmeas possa ser a característica predominante. No presente estudo, as características morfométricas dos ovos estão dentro do intervalo de valores relatados em outros estudos (El-Sayed et al., 2005; Tsadik e Bart, 2007; El-Sayed e Kawanna, 2008; Ng e Wang, 2011) e não diferem estatisticamente entre os tratamentos, assim como os teores de cálcio e fósforo dos ovos. Esses dados sugerem que mesmo em condições adversas, como a restrição mineral, as fêmeas conseguem manter as características morfométricas e de composição mineral de seus ovos.

Esta hipótese é reforçada pelos resultados apresentados por Coward e Bromage (1999), que relataram menor crescimento somático de fêmeas de *Tilápia zilli* em detrimento aos investimentos reprodutivos. Lupatsch et al. (2010), observaram fato semelhante em estudo com *Oreochromis niloticus*, de forma que as fêmeas utilizaram reservas corporais para assegurar a qualidade de seus ovos, interferindo negativamente no crescimento somático. O tamanho dos ovos de outros teleósteos pode ser influenciado pelo estado nutricional das fêmeas durante a recrudescência ovariana (Bromage et al., 1992).

Resultados de desempenho produtivo semelhantes ao do presente estudo foram encontrados por Nordrum et al. (1997), Skonberg et al. (1997), Chaimongkol e Boonyaratpalin, (2001). Esses autores relataram que o crescimento dos peixes alimentados com dietas contendo baixos níveis de fósforo não diferiu dos alimentados com níveis adequados. Porém, devem-se considerar as diferentes espécies utilizadas, condições experimentais e fisiológicas dos animais avaliados. Mostrou-se clara a discrepância das médias de ganho de peso se comparados os resultados de machos e fêmeas, de forma que as fêmeas ganharam entre 55,84 e 107,34g e os machos entre 141,87 e 226,47g ao longo de todo o período experimental. Deve-se considerar que a reprodução, assim como o crescimento, envolve a síntese de novos tecidos, e que a alimentação deve suprir os precursores assim como a energia necessária na formação desses tecidos (Lupatsch et al., 2010). Dessa forma, a produção da massa de ovos influencia, decisivamente, no ganho de peso das fêmeas.

Incubadores bucais, como as fêmeas de tilápia-do-nilo, cessam sua alimentação enquanto incubam os ovos na cavidade bucal. Por apresentarem diversas desovas ao longo do ano, esse efeito torna-se cumulativo, fazendo com que menor quantidade de

ração seja consumida pelas fêmeas, aumentando ainda mais a diferença de ganho de peso entre os sexos.

Além dos fatores supracitados, Lupatsch et al. (2010) relataram que para produção de 1g de ovos são necessárias maiores quantidade de energia e proteína comparados à deposição de 1g de peso vivo. Os mesmos autores relataram ainda, que a ingestão de alimentos de matrizes é relativamente menor, se comparados com os machos reprodutores de mesmo tamanho. Estratégias de redução na ingestão de alimentos antes ou durante a época de desova são encontradas em outras espécies, como a dourada (*Sparus aurata*) (Kissil et al., 2001) e algumas espécies cessam completamente a alimentação durante esses períodos, como o salmão-do-atlântico e do Pacífico (*Salmo salar* e *Onchorhynchus spp.*) respectivamente.

As tilápias apresentam variabilidade em seus eventos reprodutivos, mesmo sob condições experimentais controladas. Fatores exógenos como fotoperíodo, características físicas e químicas da água, tamanho e idade dos reprodutores, taxa de arraçoamento, níveis de proteínas e lipídeos dietários, enriquecimento ambiental, densidade de estocagem, além de fatores sociais e comportamentais, influenciam e regulam a fisiologia reprodutiva desses peixes (Coward e Bromage, 2000). A assincronia reprodutiva, alta variabilidade no número de ovos por desova e intervalo irregular entre desovas também foram descritos em pesquisas, variações que ocorriam entre peixes de diferentes tratamentos e dentro dos tratamentos. Essas diferenças podem ser justificadas, principalmente, pela característica de desovas parceladas da espécie ao longo do ano, com ciclos reprodutivos pouco definidos e com alta influência exógena (Gunasekera et al., 1995; Siddiqui et al., 1998; Coward e Bromage, 1999; Coward e Bromage, 2000; El-Sayed et al., 2003).

Apesar da ausência de diferenças na morfologia e níveis de cálcio e fósforo nos ovos, a taxa de eclodibilidade foi superior nas desovas provenientes das matrizes alimentadas com a dieta com maior nível de Ca e P_{disp} . Diâmetro e peso dos ovos estão dentro da faixa de valores reportados em outros estudos com a tilápia-do-nilo (El-Sayed et al, 2005; Tsadik e Bart, 2007; Hajizadeh et al, 2008). As taxas médias de eclosão permaneceram dentro do intervalo de valores relatados em outros estudos (El-Sayed et al., 2005; El-Sayed e Kawanna, 2008; Hajizadeh et al., 2008), porém foram maiores que

as taxas encontradas por Tsadik e Bart (2007); Lupatsch et al. (2010); Ng e Wang (2011).

Níveis elevados de Ca e P_{disp} na dieta podem ter aumentado a quantidade circulante desses minerais, uma vez que, durante a vitelogênese, níveis elevados de componentes do soro, especialmente lipídeos, cálcio e fosfoproteínas, foram registrados em peixes (Wallace, 1978). A vitelogenina é uma fosfolipoglicoproteína sintetizada no fígado e sua ligação ao cálcio torna-a solúvel, sendo transportada através do sistema circulatório até os ovários, onde é absorvida pelos oócitos e incorporada ao vitelo (Hoar et al., 1983). Assim, aminoácidos, ácidos graxos, fosfatos e o cálcio necessário na formação do embrião são obtidos por meio dessa molécula e sua propriedade de ligação de íons serve como importante fonte de minerais para os oócitos (Specker e Sullivan, 1994; Arukwe e Goksoyr, 2003). O fosfato inorgânico é necessário na síntese de ácidos nucleicos e ATP, além do processo de glicólise (Rawn, 1983), sendo esse último, descrito como a mais importante fonte de energia para os ovos de peixes durante os estágios iniciais de desenvolvimento (Turner, 1979).

Cálcio e fósforo estão intimamente relacionados ao desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético e a estabilidade das vértebras é mantida por meio de uma fase sólida de fosfato de cálcio (Lall e Lewis-McCrea, 2007). Devido às funções exercidas na estrutura óssea, o conteúdo desses minerais nas vértebras é considerado o critério de maior sensibilidade na detecção da utilização dos mesmos por peixes (Watanabe et al., 1980; Baeverfjord et al., 1998; Jahan et al., 2001; Mai et al., 2006). As primeiras etapas da deficiência de fósforo são caracterizadas por falha na deposição mineral nos ossos e escamas (Baeverfjord et al., 1998). Os maiores níveis desses minerais nas vértebras podem ser atribuídos à inclusão de fósforo disponível na dieta, ocasionando maior taxa de deposição nos ossos (McDowell, 1992). Segundo Fontagné et al. (2009), peixes que recebem dietas deficientes em fósforo retiram e/ou retardam a deposição do mineral do osso na forma de fosfato de cálcio, o que pode ter ocorrido no tratamento com os menores níveis de suplementação mineral.

Deve-se destacar que nas fêmeas avaliadas, as diferenças significativas foram observadas entre as matrizes do tratamento com menor nível de suplementação e os demais, enquanto para os machos, os níveis de Ca nas vértebras aumentaram gradativamente com o incremento de minerais na dieta, apresentando diferenças

significativas entre todos os tratamentos. Os resultados do presente estudo corroboram com Ye et al. (2006) e Yuan et al. (2011) que, trabalhando com juvenis de “garoupa” *Epinephelus coioides* e “chinese sucker” *Myxocyprinus asiaticus* respectivamente, encontraram valores semelhantes tanto do conteúdo desses minerais nas vértebras, quanto do aumento gradativo dos mesmos conforme era maximizada a oferta de minerais na dieta.

Por outro lado, Roy e Lall (2003) relataram decréscimo significativo nos níveis de Ca e P nas vértebras do “haddock” *Melanogrammus aeglefinus* alimentado com dietas deficientes em P, além de menor conteúdo de cinzas nos ossos e opérculos. Adicionalmente, resultados semelhantes foram encontrados em estudos com peixes de água doce (Andrews et al., 1973; Ogino e Takeda, 1978; Wilson et al., 1982; Shim e Ho, 1989; Brown et al., 1993; Skonberg et al., 1997; Vielma e Lall, 1998;) e salgada (Ketola, 1975; Sakamoto e Yone, 1978; Watanabe et al., 1980; Baeverfjord et al., 1998).

A exigência de P_{disp} já foi determinada para a tilápia-azul *Oreochromis aureus* e para a tilápia-do-nilo, situando-se entre 0,46-0,70% e 0,50-1,00% respectivamente (Haylor et al., 1988; Viola et al., 1986), e foram preconizadas com base nos resultados de desempenho produtivo. Dessa forma, as comparações entre os resultados do presente estudo e os demais devem ser cautelosas. A escassez de informações nessa área demonstra a importância da pesquisa de nutrição mineral para reprodutores de peixes.

Esses dados demonstram claramente que, nos tratamentos com deficiência mineral, maior quantidade de P foi mobilizada para manutenção do metabolismo e funções biológicas. Segundo Baeverfjord et al. (1998), a reabsorção óssea contribui para a homeostase do fósforo, quando os suprimentos do mesmo são deficientes na dieta. Como já demonstrado em vários modelos experimentais e diferentes espécies, os peixes podem mobilizar minerais dos ossos (Weiss e Watabe, 1978; Wendelaar-Bonga et al., 1983; Carragher e Sumpter, 1991; Takagi et al., 1992). A redução ou atraso na ossificação pode ser consequência da diminuição do fosfato de cálcio devido sua mobilização ou desfavorecimento de seu armazenamento (Fontagné et al., 2009).

Um resultado importante do presente estudo que deve ser destacado é a mudança drástica do volume ósseo do crânio, tanto em machos quanto em fêmeas, podendo chegar a diferença de até 295% em relação aos animais que receberam dietas com máxima suplementação e a dieta com menores níveis da mesma. Isso demonstra que a

região do crânio é possivelmente o mais importante dos sítios de mobilização mineral da tilápia-do-nilo, apesar dos sinais evidentes de deficiência em todo o sistema esquelético dos animais. As imagens tomográficas mostram nitidamente o formato do crânio responsivo aos níveis de minerais nas dietas.

Na Figura 2 pode-se observar que as imagens A e B (peixes alimentados com dietas contendo 0,21-0,14% e 0,37-0,25% de Ca e P_{disp} , respectivamente) mostram crânios incompletos, possível resultado da mobilização mineral e reabsorção óssea. Peixes alimentados com dietas deficientes de fósforo retiram e/ou retardam a deposição do mineral no osso na forma de fosfato de cálcio (Fontagné et al., 2009), o que pode ter dificultado a visualização dos mesmo por meio das tomografias. Nas imagens C e D, peixes alimentados com dietas contendo 0,75-0,50% e 1,50-1,00% de Ca e P_{disp} , respectivamente, apresentaram toda estrutura esquelética visivelmente mais definida, com destaque para a região do crânio. A melhor visualização dessas imagens pode ser atribuída ao aumento na deposição de Ca e P nos ossos e/ou menores taxas de reabsorção e mobilização devido aos níveis mais adequados de suplementação dietária.

Os valores densitométricos médios dos ossos presentes no corpo dos peixes condizem aos preconizados para ossos normais (Hounsfield, 1973; Thrall, 2007). Diferenças significativas desses valores ocorreram nas três variáveis de densidade óssea nas fêmeas, demonstrando a influência dos níveis de suplementação nesses parâmetros. Nos machos, apenas a densitometria do crânio revelou influência das dietas, de forma que os maiores valores foram encontrados nos animais que receberam a dieta com maior nível de suplementação. Em estudo com juvenis de salmão-do-atlântico, Baeverfjord et al. (1998) forneceram dietas deficientes em fósforo para os animais, induzindo sinais de deficiência. Os autores observaram diminuição dos níveis de Ca e P corporal, além do desenvolvimento de ossos menos densos e com anormalidades. Foram encontrados ainda valores de densitometria óssea do crânio e vértebras que variaram entre 150–192 HU e 139–191 HU, respectivamente, valores menores do que os encontrados no presente estudo.

As maiores respostas para eclodibilidade dos ovos, conteúdo de cálcio e fósforo nos ossos, além das características densitométricas da estrutura óssea dos reprodutores de tilápia-do-nilo foram observadas nos peixes alimentados com as dietas contendo os maiores níveis de suplementação de cálcio e fósforo disponível. As imagens

tomográficas mostraram estrutura óssea mais nítida (principalmente na região do crânio) nos peixes alimentados com essa dieta. Conclui-se que, dentro dos níveis avaliados, valores de 1,50% de Ca e 1,00% de P_{disp} , na dieta de reprodutores de tilápia-do-nilo, garantem melhor mineralização óssea e maiores taxas de eclodibilidade dos ovos.

5. Referências Bibliográficas

- Andrews, J.W., Murai, T., Campbell, C., 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish. *J. Nutr.* 103, 766–771.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis, 16th edn. AOAC, Arlington, VA.
- Arukwe, A.; Goksoyr, A. 2003. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comp. Hepat.*, 2, 1-21.
- Baeeverfjord, G., Asgard, T., Shearer, K.D., 1998. Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr and post-smolts. *Aquac. Nutr.* 4, 1–11.
- Bhujel, A., 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia broodstock in seed production systems, especially hapa-based systems. *Aquaculture* 181, 37–59.
- Bhujel, R.C., Yakupitiyage, A., Little, D.C., Turner, W.A., 2001. Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa-in-pond system. *Aquaculture* 194, 303–314.
- Bromage, N.R., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100, 141–166.
- Brown, M.L., Jaramillo, F., Gatlin, D.M. III, 1993. Dietary phosphorus requirement of juvenile sunshine bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. *Aquaculture*, 113, 355–363.
- Bombardelli, R.A., Hayashi, C., Natali, M.R.M., Sanches, E.A., Piana, P.A., 2010. Digestible energy level on reproductive and zootechnical performance and lipids deposition in hepatocytes of the Nile tilapia males. *Rev. Bras. Zoot.* 40, 941-949.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publishers, USA.
- Carragher, J.F., Sumpter, J.P., 1991. The mobilization of calcium from calcified tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced to synthesize vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol.* 99, 169–172.
- Chaimongkol, A., Boonyaratpalin, M., 2001. Effects of ash and inorganic phosphorus in diets on growth and mineral composition of seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquac. Res.*, 32, 53– 59.
- Coward, K.; Bromage, N.R., 1999. Spawning periodicity, fecundity and egg size in laboratory-held stocks of a substrate-spawning tilapiine, *Tilapia zillii* (Gervais). *Aquaculture* 171, 251–267.

- Coward, K.; Bromage, N.R., 2000. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Rev. Fish Biol. Fish.* 10, 1-25.
- El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R., Ezzat, A.A., 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 220, 619–632.
- El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R., Ezzat, A.A., 2005. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 248, 187-196.
- El-Sayed, A.F.M. Tilapia Culture, 2006. CABI Publishing, Massachusetts, USA.
- El-Sayed, A.F.M., Kawanna, M., 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture* 280, 179–184.
- FAO. Fisheries and aquaculture information and statistic service: 2013: Global aquaculture production: 1950-2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/figis>> Acesso em: 08 mar. 2013.
- Fontagné, S., Silva, N., Bazin, D., Ramos, A., Aguirre, P., Surget, A., Abrantes, A., Kaushik, S.J., Power, D.M., 2009. Effects of dietary phosphorus and calcium level on growth and skeletal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture* 297, 141–150.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Pezzato, A.C., Barros, M.M., 2001. Coeficiente de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. Anais...Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1407-1409.
- Furuya, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias, GMF Gráfica & Editora, Toledo.
- Garland, M.R., Lawler, L.P., Whitaker, B.R., Walker, I.D.F., Corl, F.M., Fishman, E.K., 2002. Modern CT applications in Veterinary Medicine. *RadioGraphics* 22, 55-62.
- Gunasekera, R.M., Shim, K.F., Lam, T.J., 1995. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 134, 169–183.
- Gunasekera, R.M., Shim, K.F., Lam, T.J., 1996. Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 146, 12-134.
- Hajizadeh, A., Jauncey, K., Rana, K., 2008. Effects of dietary lipid source on egg and larval quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). The Eighth International Symposium on Tilapia in Aquaculture: In: Elghobashy, H., Fitzsimmons, K., Diab, A.S. (Eds.), American Tilapia Association, vol. 2, pp. 965–977.
- Haylor, G.S., Beveridge, M.C.M. and Jauncey, K., 1988. Phosphorus nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus*. In: R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (Editors), The Second International Symposium

- on Tilápia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, 623 pp. Department of Fisheries, Bangkok and ICLARM, Manila, pp. 341-345.
- Helland, S., Refstie, S., Espmark, A., Hjelde, K., Baeverfjord, G., 2005. Mineral balance and bone formation in fast-growing Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) in response to dissolved metabolic carbon dioxide and restricted dietary phosphorus supply. *Aquaculture* 250, 364-376.
- Hildsorf, A.W.S., 1995. Genética e cultivo de tilápias-vermelhas: uma revisão. *Bol. Inst. Pesca* 22, 73-84.
- Hoar, W. S.; Randall, D.J. and Donaldson, E.M., 1983. *Fish physiology*. Vol. I. Excretion, Ionic regulation and metabolism, 465 pp.
- Hounsfield, G. N., 1973. Computerized transverse axial scanning (tomography): Part I. Description of system. *Brit. J. Rad.* 46, 1016-1022.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25–42.
- Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S., Kiron, V., 2001. Formulation of low phosphorus loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquac. Res.* 32, 361–368.
- Ketola, H.G., 1975. Requirement of Atlantic salmon for dietary phosphorus. *Trans. Am. Fish. Soc.* 104, 548–551.
- Kissil G.W., Lupatsch, I., Elizur A., Zohar Y., 2001. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 200, 363-379.
- Lall, S.P., 2002. The minerals, In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd edition. Academic Press Inc., San Diego, pp. 259–308.
- Lall, S.P., Lewis-McCrea, L.M., 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish — An overview. *Aquaculture* 267, 3–19.
- Lim, C.E., Webster, C.D. (Eds.), 2006. *Tilápia: Biology, Culture, and Nutrition. Complete Book*. Haworth Press, Binghamton, NY. 703 pp.
- Lovell, R.T., 1998. *Nutrition and feeding of fish*, second ed. Auburn, Alabama.
- Lupatsch, I., Deshev, R., Magen, I., 2010. Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilápia *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Res.* 41, 763–769.
- Mai, K., Zhang, C., Ai, Q., Duan, Q., Xu, W., Zhang, L., Liufu, Z., Tan, B., 2006. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 251, 346-353.
- Markzent, Z., 1976. Spectrophotometric determination of elements. Ellis Howood, Chichester, 211-215.
- McDowell, L.R., 1992. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, San Diego.
- Miranda, E.C, Pezzato, A.C., Pezzato, L.E., Graner, C.F., Rosa, G.J., Quintero-Pinto, L.G., 2000. Relação Cálcio/Fósforo Disponível em Rações para Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zoot.* 29, 2162-2171.

- Ng, W.K., Wang, Y., 2011. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. *Aquaculture* 314, 122-131.
- Nordrum, S., Asgard, T., Shearer, K.D., Arnesen, P., 1997. Availability of phosphorus in fish bone meal and inorganic salts to Atlantic salmon (*Salmo salar*) as determined by retention. *Aquaculture* 157, 51-61.
- Nose, T. 1960 On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus*) L. and rainbow trout (*Salmo irideus*). *Bull. Fresh. Fish.* 10, 11-22.
- National Research Council (NRC) 1993. Nutrient requirements of fish. The National Academy of Sciences, Washington, DC, 114pp.
- Ogino, C., Takeda, H., 1978. Requirements of rainbow trout for dietary calcium and phosphorus. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44, 1019-1022.
- Patiño, R., Sullivan, C.V., 2002. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiol. Biochem.* 26, 57-70.
- Pezzato, L.E., Barros, M.M., Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P., 2004. Nutrição de peixes, in: Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C., Fracalossi, D.M., Castagnoli, N. (Eds), Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. TecArt, São Paulo, pp. 75-169.
- Ramirez-Munoz, J., 1968. Atomic absorption spectrophotometer and analysis by atomic-absorption flame photometry. Elsevier, New York.
- Rana, K.J.; Macintosh, D.J., 1988. A comparison of the quality of hatchery-reared *Oreochromis niloticus* fry, in: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K. and Maclean, J.L. (Eds.), Proceedings of the Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings No. 15, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and ICLARM, Manila, Philippines, pp. 497-502.
- Rawn, J.D., 1983. Biochemistry. Harper and Row, Publishers, New York.
- Roy, P.K., Witten, P.E., Hall, B.K, Lall, S.P., 2002. Effects of dietary phosphorus on bone growth and mineralization of vertebrae in haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 27, 35-48.
- Roy, P.K., Lall, S.P., 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture* 221, 451-468.
- Sakamoto, S., Yone, Y., 1978. Effect of dietary phosphorus level on chemical composition of red seabream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44, 227-229.
- Shearer, K.D., 1984. Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri*, associated with growth and reproduction. *Can. J. Fish. Aquatic Sci.* 41, 1592-1600.
- Shim, K.F., Ho, C.S., 1989. Calcium and phosphorus requirements of guppy *Poecilia reticulata*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 55, 1947-1953.
- Siddiqui, A.Q., Al Hafedh, Y.S., Ali, S.A., 1998. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquac. Res.* 29, 349-358.

- Skonberg, D. I., Yogev, L., Hardy, R. W., Dong, F. M., 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 157, 11 – 24.
- Specker, J. L.; Sullivan, C. V. 1994. Vitellogenesis in fishes: status and perspectives, In: *Perspectives in Comparative Endocrinology*, K. G. Davey, R. E. Peter, e S. S. Tobe, eds., Ottawa: National Research Council of Canada. pp.304-315.
- Steffens, W., 1987. *Principios fundamentales de la alimentación de los peces*, ed. Acribia, Zaragoza.
- Stell, R.G.D. & Torrie, S.H., 1984. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach*. second ed. McGraw-Hill International, Auckland.
- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158.
- Takagi, Y., Moriyama, S., Hirano, T., Yamada, J., 1992. Effects of growth hormones on bone formation and resorption in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as examined by histomorphometry of the pharyngeal bone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 86, 90–95.
- Terner, C., 1979. Metabolism and energy conversion during early development. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *The Physiology of Developing Fish: Part A. Eggs and Larvae*. Fish Physiology, vol. 8. Academic Press, London, pp.261–278.
- Thrall, D. E., 2007. *Veterinary diagnostic radiology*, ed. Elsevier, North Carolina.
- Trewavas, E., 1982. Genetic groupings of Tilapiini used in aquaculture. *Aquaculture* 27, 79-81.
- Tsadik G.G., Bart A.N., 2007. Effects of feeding, stocking density and water-flow rate on fecundity, spawning frequency and egg quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 225,380-388.
- Wallace, R. A. 1978. Oocyte growth in non- mammalian vertebrates. In the vertebrate ovary, edited by Jones, R. E. New York: Plenum Corporation. pp.465- 501.
- Watanabe, T., Murakami, A., Takeuchi, T., Nose, T., Ogino, C., 1980. Requirement of chum salmon held in fish eater for dietary phosphorus. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46, 36-367.
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace mineral in fish nutrition. *Aquaculture* 151, 185–207.
- Weiss, R.E., Watabe, N., 1978. Studies on the biology of fish bone. 1. Bone resorption after scale removal. *Comp. Biochem. Physiol.* 60, 207–211.
- Wendelaar-Bonga, S.E., Lammers, P.I., van der Meij, J.C.A., 1983. Effects of, 1, 25- and, 25, 25-dihydroxyvitamin D₃ on bone formation in the cichlid teleost *Sarotherodon mossambicus*. *Cell. Tissue Res.* 228,117–126.
- Wilson, R.P., Robinson, E.H., Gatlin III, D.M., Poe, W.E., 1982. Dietary phosphorus requirement of Channel catfish. *J. Nutr.* 112, 1197–1202.
- Ye, C.X., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Du, Z.Y., Yang, H.J., Niu, J., 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and

- body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture 255, 263-271.
- Yuan, Y.C., Yang, H.J., Gong, S.Y., Luo, Z., Yu, D.H., Yan, J.L., Yang, X.F., 2011. Dietary phosphorus requirement of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. Aquac. Nutr. 17, 159-169.
- Vielma J., Lall S.P., 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160, 117–128.
- Viola, S., Zohar, G., Arieli, Y., 1986. Phosphorus requirements and its availability from different sources for intensive pond culture species in Israel: Part 1. Tilápia. Bamidgeh 38 (1), 3–12.

Tabela 1

Composição das dietas experimentais (g/100 g MS) de fêmeas reprodutoras de tilápia.

	<i>Dietas Experimentais^a</i>			
	0,21 - 0,14	0,37 - 0,25	0,75 - 0,50	1,50 - 1,00
<i>Ingredientes</i>				
Farelo de soja ^b	59,18	59,41	58,69	59,59
Glúten de milho ^c	9,16	9,16	10,00	10,00
Milho ^d	27,79	26,53	24,40	19,20
Óleo de soja	2,72	3,10	3,65	5,00
DL-metionina	0,22	0,22	0,22	0,22
L-treonina	0,36	0,36	0,36	0,36
L-triptofano	0,06	0,06	0,06	0,06
Fosfato bicálcico ^e	-	0,60	1,95	4,68
Calcário calcítico ^f	0,06	0,11	0,22	0,44
BHT ^g	0,02	0,02	0,02	0,02
Premix vit/min ^h	0,05	0,05	0,05	0,05
Vitamina C ⁱ	0,18	0,18	0,18	0,18
Sal	0,10	0,10	0,10	0,10
Óxido de crômio-III ^j	0,10	0,10	0,10	0,10
<i>Composição química</i>				
Energia Dig. (kcal/100 g ⁻¹)	330	330	330	329
Proteína Dig.	32,50	32,50	32,54	32,53
Fibra Bruta	4,06	4,05	3,97	3,92
Extrato Etéreo	4,67	5,02	5,52	6,69
Cálcio total ^k	0,21	0,37	0,75	1,50
P _{disp.} (g/100 g ⁻¹) ^k	0,14	0,25	0,50	1,00
P _{disp.} (g/100 g ⁻¹) ^l	0,11	0,27	0,37	0,60
ED/PD	10,15	10,16	10,14	10,12

^a g/100 g Ca – P_{disp}^b Contém 45,9 g de proteína bruta, 1,1 g de extrato etéreo, 5,8 g de fibra bruta e 6,9 g de cinzas por 100g de matéria seca.^c Contém 62,4 g de proteína bruta, 4,2 g de extrato etéreo, 1,1 g de fibra bruta e 1,4 g de cinzas por 100g de matéria seca.^d Contém 8,4 g de proteína bruta, 3,4 g de extrato etéreo, 1,9 g de fibra bruta e 1,4 g de cinzas por 100g de matéria seca.^e Contém 24,5 g de Ca e 19,6 g de P_{total} por 100g de matéria seca.^f Contém 38,4 g de Ca por 100g de matéria seca.^g Butil-Hidroxi-tolueno (Antioxidante);^h Suplemento mineral e vitamínico (Composição/kg de produto): Vit. A=1.200.000 UI; vit. D3=200.000 UI; vit. E=12.000 mg; vit. K3=2.400 mg; vit. B1=4.800 mg; vit. B2=4.800 mg; vit. B6=4.000 mg; vit. B12=4.800 mg; ác. fólico=1.200 mg; pantotenato de cálcio =12.000 mg; vit. C=48.000 mg; biotina =48 mg; colina =65.000 mg; ácido nicotínico =24.000 mg; Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=6.000 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg;ⁱ Vitamina C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo;^j Óxido de crômio-III (Cr₂O₃) = marcador inerte.^k Valor calculado^l Valor analisado

Tabela 2

Características morfométricas e teores de Ca e P dos ovos de tilápias-do-nylo alimentadas com dietas contendo níveis de Ca e P_{disp}.

<i>Variáveis</i>	<i>Dietas Experimentais^a</i>			
	0,21 - 0,14	0,375 - 0,25	0,75 - 0,50	1,50 - 1,00
Média de peso úmido (mg)	6,95 ± 0,89	7,09 ± 0,25	6,71 ± 0,56	6,75 ± 0,97
Diâmetro maior (mm)	2,80 ± 0,10	2,74 ± 0,05	2,63 ± 0,11	2,58 ± 0,16
Diâmetro menor (mm)	1,93 ± 0,08	1,99 ± 0,04	1,92 ± 0,10	1,95 ± 0,12
Diâmetro médio (mm)	2,36 ± 0,09	2,37 ± 0,03	2,27 ± 0,08	2,26 ± 0,13
Cálcio (%)	0,49 ± 0,01	0,5 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,02
Fósforo (%)	1,28 ± 0,02	1,33 ± 0,03	1,26 ± 0,03	1,26 ± 0,03

Valores na mesma linha seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes (P<0,05).

^a g/100 g Ca – P_{disp}

N = 20 ovos/repetição/tratamento.

Tabela 3

Desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis de Ca e P_{disp} .

<i>Desempenho reprodutivo</i>	<i>Dietas Experimentais^a</i>			
	0,21 - 0,14	0,375 - 0,25	0,75 - 0,50	1,50 - 1,00
Frequência reprodutiva (desova fêmea ⁻¹)	5,00 ± 1,50	6,50 ± 3,50	7,50 ± 1,70	8,50 ± 3,16
Número total de ovos por fêmea	3023 ± 677	3734 ± 3192	4696 ± 3544	4212 ± 4075
Fecundidade absoluta ^b	609 ± 271	732 ± 121	733 ± 314	630 ± 280
Intervalo entre desovas (dias)	44 ± 15	45 ± 16	28 ± 8	28 ± 14
Volume total de ovos (mL)	27,31 ± 6,54	49,63 ± 30,06	54,9 ± 32,47	49,38 ± 29,26
Taxa média de eclosão (%)	57 ± 5 b	54 ± 8 b	54 ± 15 b	78 ± 8 a

Os resultados são médias ± desvio padrão de um grupo de 9 fêmeas por tratamento. Valores na mesma linha seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

^a g/100 g Ca – P_{disp} .

^b Média do número de ovos em cada desova por fêmea.

Tabela 4

Desempenho produtivo (g), volume ósseo (cm³), densitometria (HU) e composição química dos ossos (%).

<i>Variável</i>	<i>Dietas Experimentais^a</i>			
<i>Fêmeas</i>	0,21 - 0,14	0,375 - 0,25	0,75 - 0,50	1,50 - 1,00
Ganho de peso	107,34 ± 56,45	55,84 ± 43,01	88,08 ± 28,94	61,91 ± 30,71
Ganho de peso médio diário	0,68 ± 0,36	0,35 ± 0,27	0,56 ± 0,18	0,40 ± 0,19
Volume das vértebras	5,69 ± 1,18	6,68 ± 1,94	6,60 ± 1,82	6,85 ± 1,71
Volume do crânio	4,42 ± 1,56 b	8,23 ± 3,92 ab	8,47 ± 3,35 ab	10,00 ± 2,91 a
Volume ósseo total	15,756 ± 5,19	22,862 ± 12,50	24,582 ± 7,84	25,028 ± 7,07
Densitometria das vértebras	248,16 ± 10,28 b	259,12 ± 13,25 ab	270,36 ± 10,15 a	274,32 ± 5,18 a
Densitometria do crânio	184,68 ± 12,24 b	207,24 ± 29,9 ab	210,48 ± 13,54 ab	224,82 ± 14,2 a
Densitometria total dos ossos	242,98 ± 11,92 b	257,58 ± 19,08 ab	261,82 ± 7,41 ab	270,6 ± 9,62 a
Cálcio nos ossos	14,46 ± 2,53 b	20,10 ± 0,82 a	21,49 ± 0,55 a	20,33 ± 1,25 a
Fósforo nos ossos	8,66 ± 0,60 c	11,77 ± 0,35 a	11,62 ± 0,49 a	10,61 ± 0,36 b
<i>Machos</i>				
Ganho de peso	141,87 ± 71,42	152,60 ± 46,17	195,44 ± 66,91	226,47 ± 31,74
Ganho de peso médio diário	0,90 ± 0,45	0,97 ± 0,29	1,24 ± 0,42	1,43 ± 0,20
Volume das vértebras	6,73 ± 0,73 b	10,19 ± 0,42 ab	11,20 ± 2,51 a	12,24 ± 1,32 a
Volume do crânio	5,32 ± 2,44 b	9,19 ± 5,80 ab	15,08 ± 6,14 ab	21,01 ± 3,49 a
Volume ósseo total	20,51 ± 1,34 b	33,70 ± 7,13 ab	46,23 ± 17,66 ab	52,94 ± 7,03 a
Densitometria das vértebras	239,27 ± 8,17	242,30 ± 18,28	263,90 ± 2,50	260,30 ± 12,97
Densitometria do crânio	181,23 ± 7,63 b	204,47 ± 31,76 ab	212,60 ± 13,50 ab	248,33 ± 15,55 a
Densitometria total dos ossos	231,73 ± 13,776	246,1 ± 24,37	245,35 ± 7,45	263,23 ± 4,11
Cálcio nos ossos	16,12 ± 0,64 d	18,86 ± 0,17 c	20,39 ± 0,35 b	22,17 ± 0,34 a
Fósforo nos ossos	8,51 ± 1,20 b	9,52 ± 0,92 ab	10,83 ± 0,50 a	10,94 ± 1,20 a

Os resultados são médias ± desvio padrão de 3 machos e 3 fêmeas por tratamento. Valores na mesma linha seguidos por diferentes letras são significativamente diferentes (P<0,05).

^a g/100 g Ca – P_{disp.}

6. Figuras

Figura 1

Imagens tomográficas das regiões avaliadas em matrizes de tilápia-do-nilo submetidas a níveis de suplementação mineral: A (volume e densitometria das vértebras); B (volume e densitometria do crânio) e C (volume e densitometria total).

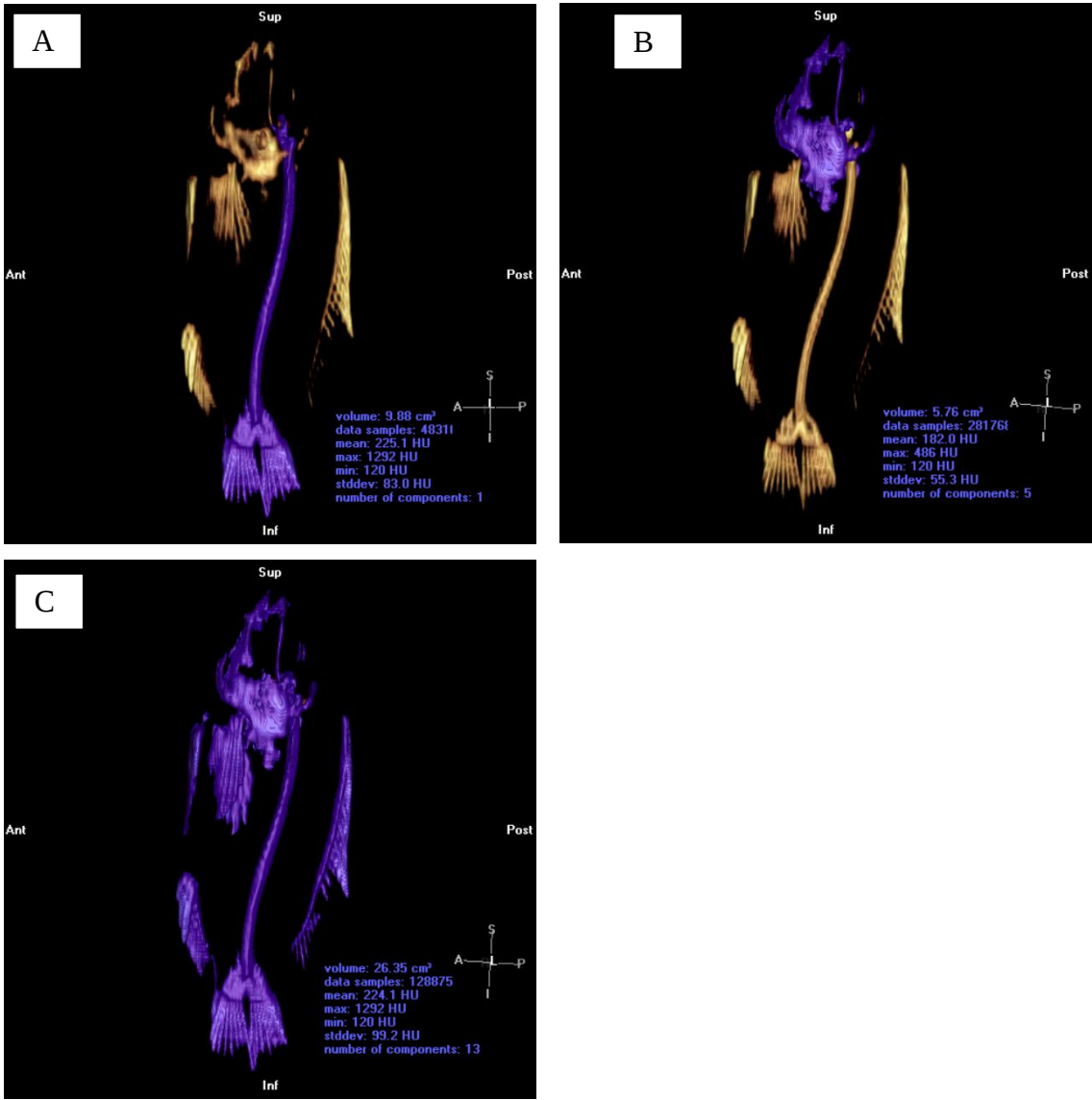
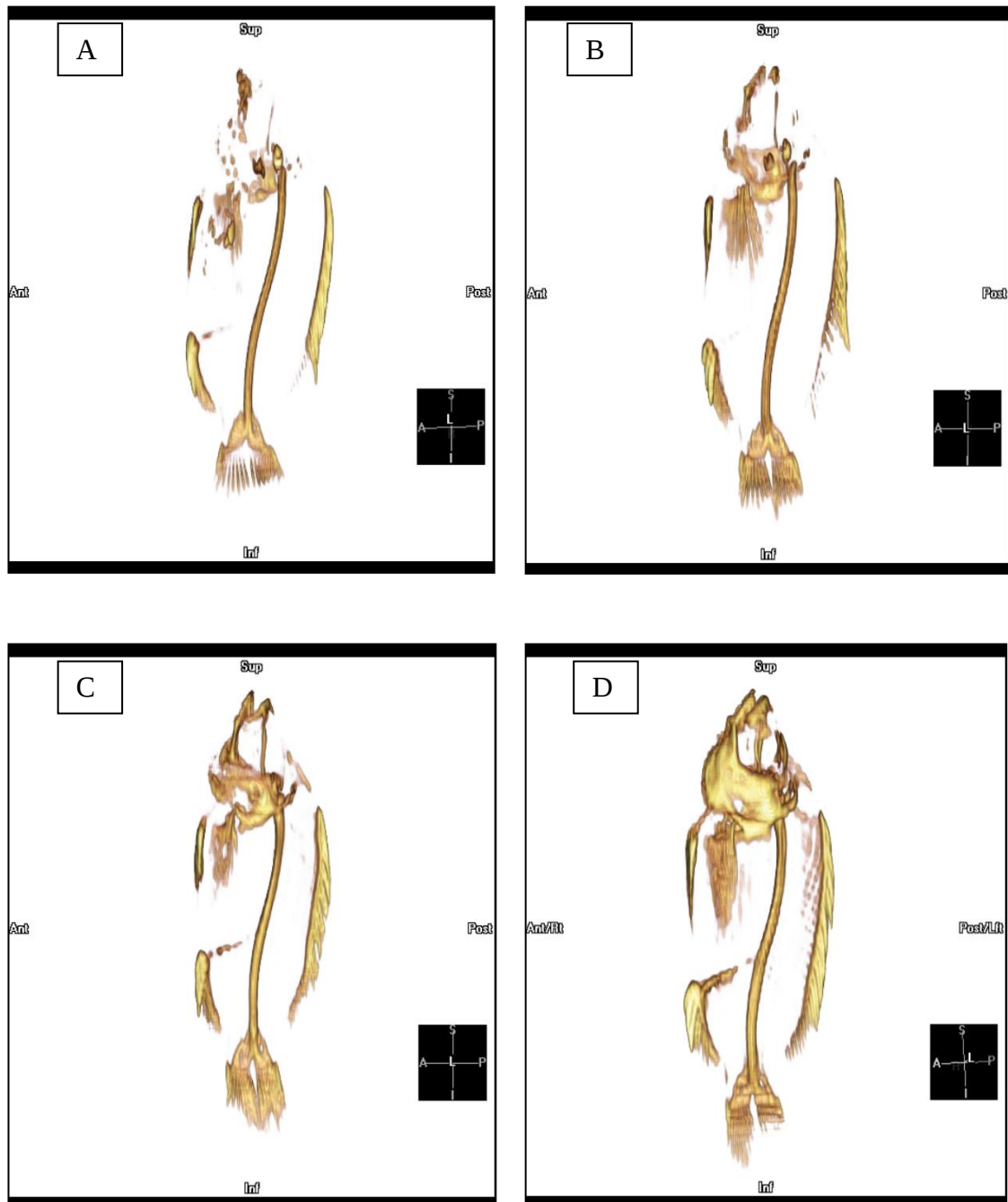


Figura 2

Imagens tomográficas A (0,21 – 0,14% Ca e Pdisp); B (0,375 – 0,25% Ca e Pdisp); C (0,75 – 0,50% Ca e Pdisp) e D (1,50 – 1,00% Ca e Pdisp) de matrizes de tilápia-do-nilo submetidas aos níveis de suplementação mineral.



CAPÍTULO III

IMPLICAÇÕES

Implicações

A aquicultura vêm crescendo em ritmo acelerado ao longo das últimas décadas, se destacando como atividade pecuária do futuro, solução para o declínio dos estoques pesqueiros. Dentre as atividades aquícolas, a tilapicultura merece olhar mais cuidadoso, por apresentar o maior crescimento dentre todos os grupos de peixes cultivados. Esse aumento na produção de tilápias por todo o Mundo, inclusive no Brasil, faz com que se torne necessário o domínio das técnicas reprodutivas e de manejo dessas espécies. A tilápia-do-nilo se destaca nesse cenário, sendo a mais produzida das tilápias.

Muitos estudos estão sendo realizados com a tilápia-do-nilo, com destaque para a área da nutrição. Dessa forma, foram determinadas exigências nutricionais para diferentes fases da vida desses animais, e sob diferentes condições fisiológicas. Porém, as exigências nutricionais para reprodutores dessa espécie são negligenciadas, o que pode ser considerado retrocesso na tilapicultura, uma vez que o sucesso reprodutivo é a chave para o êxito de qualquer atividade aquícola e grande entrave para produção de diversas espécies. A determinação das exigências nutricionais dos reprodutores pode incrementar a produção de alevinos, tanto em sua quantidade, quanto em qualidade, subsidiando o crescimento da atividade, almejando maior produtividade com menores custos.

Nesse sentido, pesquisas com essa classe de animais são justificadas e apresentam relevância na aquicultura. Porém, estudos envolvendo a reprodução de peixes inclusive a tilápia-do-nilo são complicados, e estão sempre sujeitos a diversos fatores ambientais e outros intrínsecos dos animais, que podem determinar o sucesso ou fracasso dos experimentos. Dificuldades encontradas nesse tipo de estudo são constantes confrontos agonísticos apresentados principalmente pelos machos da espécie, característica bastante comum nos peixes da família dos ciclídeos, a qual a tilápia-do-nilo pertence. Outro grande problema encontrado é o material genético utilizado nos experimentos. Diversos programas de melhoramento genético vêm sendo aplicados nessa espécie ao longo dos anos, possibilitando acesso a diversas linhagens no mercado. O problema são os cruzamentos não desejados, misturas de linhagens e conseqüentemente, falta de controle do material genético utilizado, o que pode gerar

grandes problemas em condições experimentais. Além dessa variabilidade genética proveniente dessa grande miscigenação das espécies e linhagens, pode-se somar a assincronia reprodutiva e desovas parceladas, que influenciam de maneira significativa na dispersão ainda maior nos dados reprodutivos. Para minimizar esses fatores indesejáveis, se torna necessário controle e conhecimento do material genético utilizado, número de animais elevado, e condições laboratoriais excelentes.

O método de identificação dos reprodutores por meio de microchips foi um sucesso. Em alguns estudos, são encontradas dificuldades na marcação e identificação dos reprodutores, o presente estudo apresenta solução eficiente para esse problema. Apesar de haver rejeição do microchip por alguns animais, em sua maioria não apresentam problemas.

As pesquisas com nutrição de reprodutores vêm enfatizando às necessidades em proteínas e lipídeos dessa classe de animais, poucos estudos foram realizados com minerais. Os minerais são elementos inorgânicos necessários para manutenção de várias funções metabólicas. Suas exigências para o crescimento da tilápia-do-nilo já foram definidas, porém são escassos os estudos com esses elementos para os reprodutores. Esse panorama começa a ser transformado, devido principalmente às novas tecnologias para análise e determinação de exigências em minerais para peixes.

Dentre essas novas tecnologias, pode-se destacar a tomografia computadorizada, que vem sendo utilizada na determinação da composição corporal de animais, além da determinação de exigências nutricionais dos minerais envolvidos na formação da estrutura óssea de diversas espécies de animais, incluindo peixes. Deve-se lançar mão dessas novas ferramentas garantindo melhores e mais confiáveis resultados nas pesquisas e, conseqüentemente, retorno desses estudos à sociedade.