

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Resposta ao estresse em diferentes famílias
de tilápia-do-Nilo**

Bernardo Ramos José

Jaboticabal – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Resposta ao estresse em diferentes famílias de tilápia-
do-Nilo**

Bernardo Ramos José

Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Aquicultura do Centro de Aquicultura
da UNESP - CAUNESP, como parte
dos requisitos para obtenção do
título de Mestre

Jaboticabal – SP
2021

J83r José, Bernardo Ramos
Resposta ao estresse em diferentes famílias de tilápia-do-Nilo
/ Bernardo Ramos José. – – Jaboticabal, 2021
vi, 6 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Centro de Aquicultura, 2021

Orientador: Leonardo Susumu Takahashi

Banca examinadora: Rafael Vilhena Reis Neto, Márcio
Hoshiba

Bibliografia

1. Herdabilidade. 2. Resposta ao estresse. 3. Cortisol. 4.
Melhoramento genético. 5. *Oreochromis niloticus*. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.05



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Resposta ao estresse em diferentes famílias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

AUTOR: BERNARDO RAMOS JOSÉ

ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena – UNESP

Prof. Dr. RAFAEL VILHENA REIS NETO (Participação Virtual)
Curso de Engenharia de Pesca / UNESP, Câmpus de Registro, Registro-SP

Prof. Dr. MARCIO AQUIO HOSHIBA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia e Extensão / Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá-MT

Jaboticabal, 27 de julho de 2021

DADOS DO AUTOR

Possui graduação em Engenharia de Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina (2016), com período sanduíche na Universidade de Guelph, Guelph - ON, Canadá. Ao longo da trajetória na aquicultura, desenvolveu trabalhos relacionados à reprodução de espécies nativas, cultivo de truta arco-íris, comércio de equipamentos em aquicultura e nutrição em piscicultura, tanto no setor acadêmico quanto no produtivo. Possui publicações em revista especializada, e em anais de congresso. Após a graduação, trabalhou em empresa produtora de ração animal, exercendo atividades relacionadas ao atendimento técnico e comercial de soluções nutricionais na área de aquicultura, fazendo parcerias com piscicultores do vale do Itajaí, em Santa Catarina. Posteriormente foi bolsista de mestrado no Laboratório de tilapicultura do Caunesp, onde realiza pesquisas sobre genética, nutrição e tecnologias relacionadas ao cultivo de tilápia. Hoje trabalha gerenciando uma empresa de produção de alevinos de espécies amazônicas de peixes no estado do Tocantins.

” As oportunidades multiplicam-se à medida que são agarradas”

Sun Tzu

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado à piscicultura brasileira

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais Maria da Glória e Humberto Jorge por todo amor e educação que me deram ao longo da vida. Agradeço também ao meu Irmão Conrado e aos meus avós Ivo e Ieda por estarem sempre junto como família.

À todos os professores do programa de pós-graduação do Centro de Aquicultura da Unesp, em especial ao meu orientador, Dr. Leonardo Susumu Takahashi por todos seus ensinamentos, bem como pela amizade e companheirismo

Aos membros da banca prof. Rafael Vilhena Reis Neto pela amizade e coorientação na área de genética; e ao professor Marcio Hoshiba pelas valiosas considerações que permitiram a excelência na realização do trabalho.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Tilapicultura do Caunesp Thaise Mota Sátiro, Thayse Michelin, Amanda Miyuki, Pietra Malumbres, Márcio Kishimoto,

Aos colegas do LAFIPE – Laboratório de fisiologia de peixes, por todo suporte técnico e empenho incansável para a adequada realização das coletas, análises, bem como por todo companheirismo e amizade ao longo do curso da pós-graduação.

Ao CNPQ, pela bolsa e suporte financeiro, fundamental para a realização do trabalho.

Aos meus colegas de pós-graduação pelo entusiasmo e perseverança que sempre demonstraram em relação à vida profissional na aquicultura.

Ao corpo técnico do Caunesp, Valdecir, Márcio, Damares Perecim Rovieiro e principalmente o Luis Fernando de Souza, pelo apoio imprescindível, além de todas as lições com as quais contribuíram ao longo de todo o período de atuação no Caunesp.

Ao David Lorente, Mayara e todos os membros do corpo administrativo do programa de pós-graduação e Centro de Aquicultura da Unesp em Jaboticabal.

Aos prestadores de serviços e fornecedores de insumos que agregaram e proporcionaram condições para o avanço de cada etapa do ciclo de trabalho no programa de pós graduação.

À todos os colegas dos laboratórios do Centro de Aquicultura da Unesp, campus Jaboticabal, com os quais tive o privilégio de interagir e evoluir como pesquisador, profissional e pessoa.

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	2
2.1. Melhoria genética de tilápias.....	2
2.2. Estresse e sistema imune em peixes	4
2.3. Fator genético da tolerância ao estresse em peixes	6
3. Objetivo	8
4. Material e métodos	9
4.1. Experimento piloto.....	9
4.2. Experimento principal.....	9
4.2.1. Acasalamento dos lotes parentais e geração das famílias.....	9
4.2.2. Avaliação de ganho de peso	12
4.2.3. Exposição aérea e coleta de sangue	14
4.2.4. Análise dos parâmetros fisiológicos	17
4.2.5. Análise dos dados	17
5. Resultados	18
5.1. Experimento piloto.....	18
5.2. Experimento principal.....	19
6. Discussão.....	28
7. Referências	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tanques retangulares de fibra de vidro com ambiente enriquecido	11
Figura 2 – Incubadoras com bandejas utilizadas para separação das larvas por família com pedigree	12
Figura 3 – Bateria de tanques onde foram realizados os acasalamentos, larvicultura, alevinagem, avaliação de ganho de peso e aplicação da exposição aérea para medição da resposta ao estresse nas famílias de irmãos-completos e meio-irmãos.....	8
Figura 4 - Exposição aérea por meio do fechamento do bolsão de tanque rede e suspensão dos peixes para fora d'água por 8 minutos.....	15
Figura 5 – Ilustração do delineamento experimental do projeto.....	15
Figura 6 – Coleta de sangue dos peixes ocorreu antes do estresse agudo e 3 h após a exposição aérea.....	16
Figura 7 – Determinação do sexo das tilápias por meio da observação da papila urogenital com lupa e corante azul de metileno	16
Figura 8 – Concentração de glicose no plasma em juvenis de tilápia submetidos à exposição aérea por 4 e 8 minutos.....	19
Figura 09 – Médias de peso de cada família de tilápia-do-Nilo nas três biometrias ao longo dos 60 dias de avaliação.	20
Figura 10 – Valor genético aditivo (VGA) médio de glicose analisado por família.	25
Figura 11 – Valor genético aditivo (VGA) médio do nível de cortisol analisado por família.....	25
Figura 12 – Correlação entre as médias de peso final e nível de glicose das famílias de irmãos e meio irmãos	26
Figura 13 – Correlação entre as médias dos valores de glicose e cortisol de cada família de irmãos e meio irmãos	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cruzamentos que deram origem às famílias avaliadas no projeto	12
Tabela 2 - Peso final, ganho de peso, peso diário, taxa de crescimento específico e coeficiente de crescimento térmico de cada uma das 8 famílias de tilápia-do-Nilo avaliadas no projeto.....	21
Tabela 3 - Parâmetros fisiológicos das 8 famílias de tilápia-do-Nilo sem aplicação do estresse (A) e após serem submetidas ao estresse (D) por exposição aérea	22
Tabela 4 – Desdobramento das interações entre as 8 famílias de tilápia-do-nilo e a aplicação do estresse.....	23
Figura 5 - Estimativas de herdabilidade (h^2), e efeitos de alevinagem (w^2) para peso final, glicose e cortisol com intervalo de confiança; e correlação genética entre os parâmetros	27



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



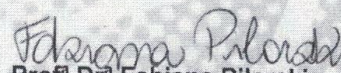
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da resposta ao estresse agudo em diferentes famílias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**", protocolo nº 3555/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 23 de junho de 2020.

Vigência do Projeto	20/07/2020 a 30/10/2020
Espécie / Linhagem	Tilápia (<i>Oreochromis Niloticus</i>)
Nº de animais	400
Peso / Idade	50g / 90 dias
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Laboratório de Tilapicultura do Caunesp

Jaboticabal, 23 de junho de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Resposta ao estresse em diferentes famílias de tilápia-do-Nilo

Resumo – A atividade de produção intensiva de tilápia emprega métodos e procedimentos que inevitavelmente causam algum nível de estresse aos animais. Um melhor desempenho produtivo pode ser obtido por meio do desenvolvimento de variedades com genética mais adaptada aos sistemas de produção. Atualmente, há estudos que investigam a influência do fator genético da resposta ao estresse para algumas espécies de peixes, porém não para a tilápia-do-Nilo. O presente estudo teve como objetivo verificar se há diferença do nível de resposta ao estresse entre famílias de tilápia e avaliar, por meio da análise de parâmetros genéticos, a viabilidade da utilização desta característica em um programa de melhoramento genético. Para isto, foram gerados peixes de 8 famílias com pedigree que, ao atingirem o tamanho aproximado de 15 g, foram identificados com microchip e distribuídos na proporção de 8 peixes de cada família em 6 tanques retangulares. Trinta dias após o término da avaliação do desempenho produtivo, foi aplicada a exposição aérea para posterior avaliação dos parâmetros fisiológicos. As famílias apresentaram diferentes taxas de crescimento e diferença significativa de parâmetros de resposta ao estresse. As herdabilidades dos níveis de glicose e cortisol ficaram em 0,160 e 0,220 respectivamente. Concluindo, a diferença das médias dos valores de cortisol, glicose, lactato e hemoglobina entre as famílias, bem como os valores moderados de herdabilidade obtidos para os níveis de cortisol e glicose demonstram o grande potencial destes parâmetros de serem utilizados para exercer pressão de seleção no desenvolvimento de variedades de tilápia-do-Nilo menos sensíveis ao estresse.

Palavras chave: herdabilidade, resposta ao estresse, cortisol, melhoramento genético, *Oreochromis niloticus*.

Stress response in different families of Nile tilapia.

Abstract - The intensive tilapia production activity employs methods and procedures that inevitably cause some level of stress to the animals. A better productive performance can be obtained through the development of varieties with genetics more adapted to production systems. Currently, there are studies investigating the influence of the stress response genetic factor for some fish species, but not for Nile tilapia. This study aimed to verify whether there is a difference in the stress response level among Nile tilapia families and to evaluate, through the analysis of genetic parameters, the feasibility of using this trait in a breeding program. For this, 8 families with pedigrees were generated which, when they reached the approximate size of 15 g, were identified with a microchip and distributed in the proportion of 8 fish of each family in 6 rectangular tanks. Thirty days after the end of the productive performance evaluation, they were submitted to aerial exposure for further evaluation of the physiological parameters. Families showed different growth rates and significant difference in stress response parameters. Heritability of glucose and cortisol levels was 0.160 and 0.220, respectively. In conclusion, the difference in mean cortisol, glucose, lactate and hemoglobin values between families, as well as the moderate heritability values obtained for cortisol and glucose levels demonstrate the great potential of these parameters to be used to exert selection pressure on the development of Nile tilapia varieties less sensitive to stress.

Key words: heritability, stress response, cortisol, genetic improvement, *Oreochromis niloticus*

1- INTRODUÇÃO

A piscicultura vem crescendo em ritmo acelerado e o Brasil já figura entre os maiores produtores de tilápia do mundo. Este aquecimento da atividade vem acontecendo em virtude da profissionalização da cadeia produtiva que proporciona ao mercado um produto com qualidade e competitividade para atender tanto o mercado interno quanto o externo. O mercado estipula os valores de venda e a indústria exige cada vez mais qualidade em material genético animal para garantir eficiência e obter resultados financeiros.

A indústria da tilápia ainda tem muito o que avançar em melhoramento genético para alcançar a eficiência hoje presente em outras indústrias de produção animal como bovinos, aves e suínos e a tendência é que isso ocorra em breve. Hoje a tilapicultura brasileira utiliza variedades de tilápia que passaram por processo de seleção e melhoramento genético principalmente para ganho de peso e conversão alimentar. Também há iniciativas para desenvolver variedades de tilápia com genética que proporciona maior tolerâncias a infecções bacterianas, as quais causam tantos prejuízos para o setor produtivo. No entanto muitos autores sugerem que a tolerância a doenças pode estar mais vinculada à resposta do sistema imune inatos animais do que a suscetibilidade do animal a um patógeno específico (Shoemaker, 2019).

Em peixes, os parâmetros fisiológicos do sistema imune inato e de resposta ao estresse são claramente alterados diante de agentes estressores inerentes ao processo produtivo, porém poucos estudos, principalmente para tilápia, esclarecem qual é a influência do fator genético da tolerância ao estresse e se esta é uma característica herdável que pode ser usada como critério para exercer pressão de seleção em programas de melhoramento genético. Tampouco sabe-se se esta característica está de fato correlacionada com outras de interesse como ganho de peso e rendimento de carcaça. Além da eficiência do processo produtivo, fatores como qualidade do produto, sanidade e bem estar estão no radar das vantagens relacionadas à redução do estresse nas unidades de produção. De fato como o setor produtivo pode se beneficiar do entendimento do fator genético das respostas ao estresse? A possibilidade de confinar e manejar animais que sofrem menores alterações dos parâmetros fisiológicos diante de agentes estressores é atraente e deve ser explorada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Melhoramento genético de tilápias

A tilápia é o peixe mais produzido no Brasil e um dos mais consumidos no mundo (FAO, 2020). Esta espécie é protagonista no cenário mundial de produção aquícola em decorrência de diversos fatores dentre os quais se destacam o hábito alimentar onívoro, facilidade na reprodução e larvicultura; bom crescimento dentro dos sistemas de produção; carne de textura suave e de boa aceitação pelo mercado consumidor. Para que esta espécie chegasse ao patamar atual, com características que viabilizam sua produção em larga escala ao redor do mundo, foi necessário que houvesse o contínuo desenvolvimento de variedades de maior produtividade no sistema de cultivo por meio de programas de seleção e melhoramento genético.

A tilápia já obteve grande avanço no desenvolvimento de variedades melhoradas geneticamente. Segundo relatos, os primeiros esforços direcionados para seleção de tilápias foram despendidos na década de 60, pelo Asian Institute of Technology (AIT), numa estação de piscicultura do Palácio Real de Chintralada, em Banckok. O nome do palácio acabou sendo vinculado à variedade que é uma das mais cultivadas no Brasil ainda hoje (EMBRAPA, 2015). Já a partir dos anos de 1980, foi dado início, pelo World Fish Center, ao programa GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) de seleção e melhoramento genético de tilápias. O programa GIFT, que teve início nas Filipinas, proporcionou uma revolução com grandes ganhos na produtividade da tilápia. Tanto sua tecnologia quanto os próprios animais melhorados foram largamente difundidos ao redor do planeta, permitindo o amplo acesso tanto para os pequenos produtores quanto para grandes indústrias.

Posteriormente, animais melhorados do programa GIFT foram cedidos à empresa norueguesa Genomar que aplicou ferramentas de melhoramento genético utilizadas na salmonicultura, o que permitiu um salto ainda maior na produtividade da espécie. Até hoje o programa GIFT é a base para diversos outros programas de melhoramento genético da tilápia realizados no mundo todo, inclusive no Brasil (Ponzoni et al., 2010).

No Brasil, a tilápia foi introduzida a partir da década de 1970 em diferentes regiões e épocas. Inicialmente trabalhou-se com a hibridação da

tilápia para povoamento e manejo de estoques pesqueiros em reservatórios do nordeste, em uma iniciativa do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas). Foram realizados cruzamentos entre a tilápia Zanzibar (*Oreochromis hornorum*) e a nilótica (*Oreochromis niloticus*) até que as técnicas de hibridação fossem dominadas. Após resultados motivadores no nordeste, a partir da década de 1980, outras iniciativas promoveram a disseminação da tilápia em lagos de usinas hidroelétricas em São Paulo e Minas Gerais, o que fomentou a produção de alevinos (Kubitza, 2003).

Na década de 90, em uma iniciativa da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB), juntamente com a EMATER-PR (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Paraná) e ALEVINOPAR (Associação Paranaense de Produtores de Alevinos), foram importadas matrizes da tilápia Chintralada de Banckok para melhorar a variabilidade e qualidade do material genético que predominava na região do Paraná. Em 2005, ocorreu outra iniciativa de grande impacto para o desenvolvimento da tilapicultura brasileira, quando foram enviados 600 alevinos de 30 famílias de GIFT do International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM), atual World FishCenter na Malásia para a Universidade Estadual de Maringá (UEM). Até 2010, houve na UEM, o desenvolvimento da variedade com a seleção de reprodutores por quatro gerações. Segundo relatos, este material foi distribuído para 54 empresas e 24 instituições públicas dos mais diferentes portes e perfis no país.

Nos anos de 2002 e 2005, foram feitas outras importações de tilápia GIFT, desta vez foi a variedade Supreme fornecida pela Genomar da Noruega para empresa Aquabel, no Paraná. Mais adiante, em 2018, a Aquabel foi adquirida pela companhia alemã EW group GmbH, que consolida resultados de 28 empresas alemãs e 81 estrangeiras em diversos segmentos do agronegócio e genética. Este empreendimento de altos investimentos possui as estratégias mais promissoras para liderar a qualidade do material genético da tilápia no Brasil.

Atualmente, há alguns programas de melhoramento de variedades em diferentes instituições públicas e privadas, que também contam com a importação de material genético melhorado de outros países. Esse material

biológico se difunde de forma a compor uma grande diversidade genética da tilápia presente em todo território nacional (EMBRAPA, 2015).

2.2- Estresse e sistema imune em peixes

Na piscicultura intensiva, os animais passam por diversas situações de manejo que causam estresse agudo como biometria, transferência, vacinação, transporte, despesca, baixa qualidade de água e manejo inadequado. Estes procedimentos são indispensáveis para uma maior eficiência do sistema de produção e mesmo que sejam realizados da forma mais adequada possível, irão inevitavelmente causar algum nível de estresse aos peixes.

O estresse pode ser definido como um conjunto de respostas fisiológicas e comportamentais do organismo frente a um agente estressor, como a presença de predadores e escassez de alimento, podendo causar um desequilíbrio orgânico, o que aumenta a probabilidade de sobrevivência (Wendeelar-Bonga, 1997). Tal desequilíbrio permite que o animal resista e/ou se acomode a condições adversas.

Este sistema adaptativo dos animais gera uma série de alterações fisiológicas que se manifestam em níveis primários, secundários e terciários (Oba et al., 2009). A resposta primária, neuroendócrina, é caracterizada pela ativação do hipotálamo e liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) na corrente sanguínea. Isso dá início a uma cascata de respostas integradas com efeitos disruptivos no funcionamento fisiológico normal do organismo (Harris e Bird, 2000). Quando as catecolaminas permanecem em níveis altos, acontece a liberação de cortisol e ativação do eixo pituitário-interrenal, ocasionando as respostas secundárias, como aumento dos batimentos cardíacos, elevação do consumo de oxigênio, mobilização das reservas energéticas, aumento da glicose circulante, hiperlactacemia, lipólise, inibição da síntese proteica e ainda uma oscilação da concentração de alguns íons na corrente sanguínea (Mazeaud e Mazeaud, 1981).

A resposta terciária pode ser observada em nível populacional e manifesta-se pela inibição da reprodução, depressão do sistema imune e redução da alimentação e crescimento (Lima et al., 2006). Este nível de resposta acontece em decorrência da alta intensidade e duração dos níveis de resposta

ao estresse, o que pode levar o animal a reduzir sua resposta imune inata, causando patologias ou a morte (Selye, 1950). Portanto peixes menos tolerantes a agentes estressores consequentemente tendem a apresentar menor produtividade e desempenho em condições de manejo e cultivo intensivos.

A intensidade e duração do estresse também influenciam nas consequências e resultados decorrentes. O estresse crônico se caracteriza pela longa duração e continuidade da anormalidade das condições fisiológicas do organismo. Normalmente, em condições de cultivo, este tipo de estresse está associado a baixa qualidade da água, alta densidade de estocagem ou até à presença de agentes patológicos (Afonso, 1998). Inclusive o estresse social pela relação hierárquica entre os peixes pode causar comportamento agonístico e estresse crônico com potenciais consequências graves (Krempel, 2004). Já o estresse agudo costuma ser mais intenso, porém de curta duração, o que em condições de cultivo, muitas vezes pode ser decorrente da retirada dos animais da água e consequente exposição aérea dos animais. Este tipo mais intenso e curto de estresse acontece mais comumente quando os peixes são submetidos a algum manejo pontual como biometria, transporte, vacinação e despesca (Iwama, 1993).

O sistema imune pode ser afetado pelo estresse, principalmente por meio do sistema não específico, inato, uma vez que geralmente apenas a imunidade adquirida pode responder a patógenos específicos (Cnaani, 2006). As respostas do sistema imune ao estresse são influenciadas por diversos hormônios e suas interações entre si, além de células imunocompetentes, e fatores endógenos como citocinas (Harris e Bird, 2000).

O cortisol, em razão de sua natureza lipossolúvel, penetra nas células e liga-se a genes promotores nos núcleos de forma a reprimir a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo, reprodução e resposta imune como as enzimas do sistema complemento e lisozima (Aluru e Vijayan, 2009). Barcellos (2001) estudou o efeito do cortisol sobre o sistema imune, e observou que o número de linfócitos diminuiu à medida que o cortisol aumenta. Isto pode aumentar a suscetibilidade dos animais à ação de bactérias patogênicas como *Aeromonas*, *Vibrio* e *Columnaris* (Pickering e Pottinger, 1989).

O balanço energético e metabolismo da glicose também são alterados em condições de estresse, o que contribui para imunodeficiência. O animal

estressado aciona a gliconeogênese, liberando energia de rápido acesso aos tecidos, o que diminui a alocação de energia para o sistema imune e contribui para imunodeficiência (Wedemeyer, 1996). Desta forma, a liberação de cortisol e as diversas alterações fisiológicas que acontecem após o estresse deixam o animal mais suscetível a ação de bactérias e agentes patogênicos que não causariam prejuízo em condições de equilíbrio fisiológico.

O sistema imune inato é um mecanismo fundamental de defesa dos animais que visa proteger o organismo contra agentes patogênicos. Um exemplo é o das células fagocíticas que desempenham um papel importante nos mecanismos de defesa imune e podem gerar ânions superóxidos e seus derivados reativos, os quais são poderosos agentes anti-bacterianos, chamados de burst oxidativo (Ellis, 1999). A avaliação deste parâmetro pode ser usado para se entender o grau de estimulação do sistema imune diante de um agente estressor.

A resposta ao estresse em tilápias foi estudada por Barcellos (1999) que verificou diversas alterações fisiológicas causadas pela aplicação do estresse agudo por exposição aérea durante 60 segundos, após a administração de um estresse crônico. Outros estudos também determinaram a resposta ao estresse em diferentes variedades e espécies híbridas de tilápia expostas ao ar por 5 minutos, quando foi verificado o pico dos níveis de glicose e lisozima nas amostras de sangue coletadas 2,5 h após a aplicação do estresse agudo (Cnaani, 2004). A exposição aérea também foi utilizada como agente estressor agudo por Arends (1999), que avaliou o pico dos níveis de cortisol 30 minutos após juvenis de Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) serem suspensos com uma rede para fora d'água por 3 minutos. De fato, existe uma variedade de procedimentos que podem ser adotados para provocar respostas ao estresse agudo em peixes. Neste sentido, é importante aplicar um agente estressor que proporcione respostas quantificadas por meio de análise de parâmetros fisiológicos, hematológicos e do sistema imune.

2.3- Fator genético da tolerância ao estresse em peixes.

Um melhor desempenho no cultivo pode ser alcançado por meio do aprimoramento de técnicas de produção e manejo; e por meio do

desenvolvimento de linhagens de animais mais adaptados aos processos produtivos. A maioria dos programas de melhoramento genético para tilápia do Nilo tem como objetivo selecionar animais com melhores taxas de crescimento. Isto acontece pois, além de ser uma demanda do setor produtivo, esta é uma característica que possui boa herdabilidade, o que resulta em bons ganhos genéticos de uma geração para a seguinte (Yoshida, 2003). Para tilápia, além de taxa de crescimento e ganho de peso, há iniciativas de melhoramento genético e seleção para parâmetros morfométricos (Vilhena et al., 2015), tolerância a baixa temperatura (Charo-Karisa, 2005) e resistência a doenças, mais especificamente bactérias do gênero *Streptococcus* sp. (Shoemaker, 2019). Poucos programas de melhoramento genético tem o objetivo de desenvolver variedades com maior tolerância ao estresse.

Fevolden et al. (1991) avaliaram diferentes famílias de irmãos e meio-irmãos de Truta arco íris (*Oncorhynchus mikiss*) e Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) quanto aos níveis de cortisol, glicose e lisozima aferidos em coleta de sangue após a aplicação de estresse. Considerando os parâmetros hematológicos analisados, os peixes das famílias de irmãos e meio-irmãos foram ranqueados e selecionados quanto aos seus valores de Valor genético aditivo (VGA) ao longo de quatro gerações. Neste trabalho foi realizada a separação dos animais selecionados em dois grupos (alta e baixa resposta ao estresse).

Em um estudo seguinte, Fevolden (1992), desafiou o Salmão do atlântico com *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* e *Renibacterium salmoninarum* (causadora da Bacterial kidney disease). Enquanto o grupo de baixa resposta ao estresse desempenhou melhor contra furunculosis e vibriosis, não houve diferença significativa na mortalidade entre as variedades menos e mais suscetíveis ao estresse no desafio. Posteriormente, a avaliação para seleção ao longo de quatro gerações verificou herdabilidades de 0,27 a 0,11 para resposta do cortisol e 0,06 a 0,07 para resposta à glicose (Fevolden et al., 1993). Volckaert (2012) verificou a herdabilidade de 0,08 para resposta ao estresse medida pelo nível de cortisol em Seabream após aplicação do estresse por aumento da densidade de estocagem. De acordo com diversos estudos, a herdabilidade do cortisol e de indicadores de estresse parecem ter uma grande variação entre diferentes espécies de peixes (Volckaert, 2012).

Tendo em vista a correlação positiva encontrada entre os parâmetros de resposta ao estresse, sistema imune inato, e resistência a doenças; e baseado nas experiências adquiridas com outros animais de cultivo, realizar a seleção de animais para tolerância ou resistência ao estresse é uma estratégia atraente (Cnaani, 2006). No caso do desenvolvimento de variedades resistentes à *Streptococcus*, é sugerido por Shoemaker (2019) que a própria resistência à bacteriose adquirida em um programa de seleção de reprodutores pode estar tão relacionada ao sistema imune específico quanto aos mecanismos de defesa do sistema imune inato.

Atualmente, há estudos sobre o fator genético da resposta ao estresse para algumas espécies de peixes, principalmente salmonídeos. Porém ainda não se sabe se tolerância ao estresse medida por parâmetros fisiológicos é uma característica que pode ser utilizada para direcionar um programa de seleção de reprodutores de tilápia do Nilo.

3. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo verificar se há diferença do nível de resposta ao estresse entre famílias de tilápia do Nilo e avaliar, por meio da análise de parâmetros genéticos, a viabilidade da utilização desta característica para direcionar um programa de melhoramento e seleção de reprodutores. Além disso, o estudo também buscou determinar as taxas de crescimento dos peixes das diferentes famílias para determinação dos valores genéticos aditivos e das correlações entre as características.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi composto por duas etapas. Primeiramente foi realizado um experimento piloto com peixes de famílias aleatórias para determinação dos tempos de exposição ao ar e tempos de coleta da amostra que seriam adotados no experimento principal. Tendo como referência os resultados do experimento piloto, o experimento principal avaliou o crescimento e a resposta ao estresse entre diferentes famílias de tilápia.

4.1- Experimento piloto

Juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*) ($197,0 \pm 29,3$ g) foram aclimatados em vinte e um tanques experimentais (200 L), com uma densidade de seis peixes por tanque. Os tanques foram dispostos num sistema de recirculação com controle da qualidade de água, temperatura mantida à $27,5^{\circ}\text{C}$, oxigênio em 4,5 mg/L, alcalinidade em 110 mg/L, pH 7,2; 0,25 mg/L de amônia total e 0,2 mg/L de nitrito total. A exposição ao ar foi realizada suspendendo os peixes para fora da água com uma rede e mantendo-os por quatro e oito minutos.

Os peixes foram anestesiados com benzocaína (100 mg/L) para coleta de sangue, que foi realizada com agulhas e seringas, por punção dos vasos caudais de quatro peixes por tanque ($n = 12$). O plasma foi separado para determinação da concentração de glicose e o sangue total foi utilizado para determinação do hematócrito. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e os resultados foram submetidos a análise de variância bidirecional (two-way ANOVA), com três tempos de amostragem (1, 3 e 24 h) e dois tempos de exposição aérea (4 e 8 minutos) e ao teste de Tukey ($p < 0,05$) quando necessário. Uma condição basal (grupo controle) foi analisada pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

4.2- Experimento principal

4.2.1 Acasalamento dos lotes parentais e geração das famílias.

Os lotes parentais foram obtidos de quatro pisciculturas comerciais localizadas em diferentes regiões do país para formação de um plantel de reprodutores. Quando atingiram o tamanho aproximado de 100 g, foi realizada a sexagem dos peixes por meio da observação, com lupa, da papilla urogenital destacada com azul de metileno. Posteriormente, foi realizada a identificação dos peixes com a aplicação de microchips (nanochip ISO FDX-B 134,2; 1,4 x 8 mm).

As tilápias (*Oreochromis niloticus*) foram mantidas em um sistema de recirculação de água sob condições ambientais controladas pelo período aproximado de 7 meses, tempo estimado para atingirem o estágio de maturidade sexual e serem acasalados na proporção de 10 machos para 30 fêmeas em tanques circulares de 2,90 m de diâmetro e 7.500-L. Este acondicionamento

inicial foi realizado para estimular a atividade reprodutiva nos animais e permitir a seleção de fêmeas para posterior formação de casais e obtenção de famílias com pedigree.

Destes quatro tanques com cruzamentos entre peixes dos diferentes lotes, foram selecionadas as fêmeas com os melhores históricos de desova ou estágio de maturação aparentemente avançado para formação dos acasalamentos com machos que apresentavam maior peso. Os peixes selecionados para formação das famílias foram transferidos para 14 tanques de reprodução de fibra de vidro retangulares (1.200 L) na proporção de um macho para três fêmeas. Para evitar endogamia e seus efeitos adversos, as famílias foram formadas sempre a partir de acasalamentos entre machos e fêmeas de lotes diferentes e buscando sempre o máximo de diversidade de combinações entre machos e fêmeas dos quatro lotes.

Sobre cada tanque de reprodução foram colocadas telas de sombrite para criar uma área de sombreamento e cascalho cobrindo quase todo o fundo de forma a proporcionar um ambiente mais favorável para reprodução (Figura 1). Os reprodutores foram mantidos em temperatura média de 28,5°C, condições adequadas de qualidade de água com concentração de oxigênio dissolvido de 4,0 mg/L, concentrações de amônia total e nitrito total abaixo de 0,2 mg/L e pH igual a 7,00.

Os peixes foram alimentados com ração comercial com 32% de proteína bruta (Presence TR, Grupo Neovia, Paulínia, Brasil) duas vezes ao dia às 09:00 e 16:00, até a saciedade aparente. Semanalmente foi realizada a verificação da presença de ovos na cavidade bucal das fêmeas e os ovos coletados foram transferidos para serem incubados em incubadoras com copos plásticos de 2,5 L, fluxo ascendente na vazão de 1,5 L/min, temperatura de 28°C e concentração de oxigênio dissolvido de 6,5 mg/L (Figura 2).

Após três meses de tentativas para obtenção das desovas sincronizadas num intervalo de 15 dias, um total de 8 famílias com pedigree foram obtidas entre os dias 27 de fevereiro e 12 de março de 2020. O chip identificador, o lote ao qual cada peixe pertence, e a diferença de idade entre as famílias estão indicados na Tabela 1. Após absorver o saco vitelínico, as larvas de cada família foram transferidas para serem alimentadas com ração comercial farelada 50% (Presence TR, Grupo Novia, Paulínia, Brasil) em tanques de fibra retangulares

de 1.200 L até atingirem o tamanho adequado para marcação por inserção de microchip. A fase inicial destes juvenis (cerca de 15 g) foi realizada no mesmo tanque da larvicultura, onde os peixes foram classificados para redução da densidade e mantidos separados nas mesmas caixas até a inserção do microchip.



Figura 1. Tanques retangulares de fibra de vidro com ambiente enriquecido.



Figura 2. Incubadoras com bandejas utilizadas na separação das larvas por família com pedigree.

Tabela 1. Cruzamentos que deram origem às famílias de irmãos-completos e meio-irmãos avaliadas no projeto

Família nº	TAG macho	TAG fêmea	Lote macho	Lote fêmea	Data coleta	Data eclosão
1	39624	25505	1	2	27/fev	27/fev
2	25471	121651	2	3	05/mar	06/mar
3	391193	25642	2	3	27/fev	02/mar
4	25724	25096	4	2	12/mar	13/mar
5	25724	25215	4	2	27/fev	05/mar
6	25425	25974	4	2	12/mar	14/mar
7	25425	25003	4	2	05/mar	08/mar
8	25270	25911	4	3	05/mar	06/mar
Mínimo					27/fev	27/fev
Máximo					12/mar	14/mar
Diferença máxima de idade (dias)					14	16

4.2.2- Avaliação de ganho de peso

Ao atingirem o tamanho aproximado de 15 g e serem aleatoriamente identificados com microchips, 384 juvenis foram distribuídos na proporção de 8 peixes de cada família por tanque, num total de 6 tanques retangulares de 1.200 L (Figura 3). Ao longo do experimento, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, até a saciedade aparente, às 09:00 e às 16:00 horas. Nos primeiros 30 dias, a ração utilizada foi a Presence 2 a 3 mm, 36% proteína bruta (Onívoro TR 36, Grupo Neovia, Paulínia, Brasil). A partir da primeira biometria, com 30 dias de cultivo, a ração utilizada foi substituída pela ração da mesma marca com 32% de proteína bruta (Onívoro TR 32 Grupo Neovia, Paulínia, Brasil), de 4 a 6 mm, a qual foi utilizada até o final do experimento.



Figura 3. Bateria de tanques onde foram realizados os acasalamentos, larvicultura, alevinagem, avaliação de ganho de peso e aplicação da exposição aérea para medição da resposta ao estresse nas famílias de irmãos-completos e meio-irmãos.

Ao longo dos 60 dias, a temperatura e concentração de oxigênio dissolvido foram aferidos diariamente e se mantiveram com média de 27,7°C, 4,36 mg/L, respectivamente. A temperatura foi aferida com um termômetro de máxima e mínima e a concentração de oxigênio dissolvido foi medida com o uso de oxímetro portátil (Oxyguard Handy polaris, Oxyguard international, Farum, Dinamarca). Os parâmetros avaliados semanalmente com o uso de kits alfakit (Alfakit Ltda., Florianópolis, Brasil) de análise foram: concentração de amônia total, que esteve inferior a 0,25 mg/L; concentração de nitrito, que permaneceu abaixo de 0,2 mg/L; pH, mantido em 7,2 e alcalinidade total, que esteve em 110 mg/L.

A avaliação do desempenho produtivo teve início quando os peixes apresentaram uma média de peso de $31,7 \pm 5,9$ g. Após 30 e 60 dias do início do experimento, foram realizadas biometrias dos peixes. Os índices de desempenho produtivo analisados foram: peso final (g), ganho de peso diário (g/dia); taxa de crescimento específico ($100 \cdot \ln(g)/\text{dia}$) e coeficiente de crescimento térmico ($100 \cdot (g^{1/3})/\text{graus} \cdot \text{dia}$).

Além do ganho de peso, foi realizado o controle do consumo diário de ração para determinação da conversão alimentar (CA) por unidade experimental,

uma vez que os peixes de todas as famílias foram mantidos juntos nos mesmos tanques, sendo a avaliação desta variável (CA) por família inviável.

4.2.3- Exposição aérea e coleta de sangue.

Trinta dias após o término da avaliação do desempenho produtivo, 64 peixes de cada um dos tanques retangulares de 1.200 L foram submetidos à exposição aérea para posterior avaliação dos parâmetros fisiológicos. Desta forma, os peixes identificados com nanochip de todas as famílias de irmãos e meio irmãos estavam igualmente distribuídos e representados nas 6 unidades experimentais.

Para aplicação do estresse e coleta do sangue, um bolsão de tanque rede (1x1x1), malha 1 mm, de cor preta, foi acomodado ao formato do tanque retangular de fibra para evitar o estresse por captura. Desta forma, para tirar os peixes da água foi necessário somente fechar o bolsão e suspendê-lo para fora d'água pelo tempo determinado de 8 minutos (Figura 4), de acordo com os resultados obtidos no experimento piloto.

A coleta de sangue foi realizada em duas unidades, em condição basal, sem aplicação do estresse ($n = 16$) e em 4 unidades, 3 h após a aplicação do estresse ($n = 32$), assim como ilustrado na Figura 5. O tempo de coleta também foi determinado de acordo com o ensaio piloto, no qual foi observado pico na concentração de glicose 3 h após a exposição aérea. Os peixes foram anestesiados com benzocaína (0,1 g/L) para a coleta do sangue por meio da punção dos vasos caudais (Figura 6). Após as coletas foi realizada a sexagem dos peixes por meio da observação da papilla urogenital, com lupa, destacada com azul de metileno (Figura 7).



Figura 4. Exposição aérea por meio do fechamento do bolsão de tanque rede e suspensão dos peixes para fora d'água por 8 minutos.

Coleta Basal
sem estresse

8 famílias
(64 peixes)

8 famílias
(64 peixes)

Coleta 3h após a
aplicação do estresse
por exposição aérea

8 famílias
(64 peixes)

8 famílias
(64 peixes)

8 famílias
(64 peixes)

8 famílias
(64 peixes)

Figura 5. Ilustração do delineamento do projeto.



Figura 6. Coleta de sangue dos peixes ocorreu antes do estresse agudo e 3h após a exposição aérea.



Figura 7. Determinação do sexo das tilápias por meio da observação da papila urogenital com lupa e corante azul de metileno.

4.2.4- Análises dos parâmetros fisiológicos

Amostras de sangue total foram colocadas em microtubos com anticoagulante (Glistab, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para separação de plasma e determinação da concentração de glicose, cortisol e lactato. A análise da glicose foi realizada com kit colorimétrico (K082, Bioclin Quibasa, Química Básica Ltda., Belo Horizonte, Brasil) e de leitura em espectrofotômetro. A análise de cortisol foi realizada por ensaio imunoenzimático com kit comercial (Ezyme Linked Immunosorbent Assay 887, DRG international, Inc, Springfield, NJ, EUA.), baseado em ligação competitiva, em que anticorpos monoclonais presentes nas microplacas se ligam a um sítio antigênico na molécula de cortisol. O lactato plasmático foi determinado com o kit comercial (Bioclin K084, Quibasa, Química Básica Ltda., Belo Horizonte, Brasil) e leitura em espectrofotômetro de microplacas.

Outra alíquota de sangue retirada com heparina foi destinada à tubos para realização imediata da análise da atividade respiratória de leucócitos (burst oxidativo), determinação do hematócrito por meio de centrifugação de capilares e posterior análises de hemoglobina (Kit Bioclin K023, Quibasa, Química Básica Ltda., Belo Horizonte, Brasil) e leitura em espectrofotômetro. Como indicadores iônicos foram determinadas a concentração de cloreto, a concentração de sódio e potássio também com kits comerciais.

4.2.5- Análise dos dados

Os resultados da avaliação do desempenho produtivo e de resposta ao estresse foram submetidos a análise de variância com tratamentos em arranjo Fatorial (two-way ANOVA), sendo as 8 famílias avaliadas em 2 condições (antes e após estresse) e quando couber, teste de comparação de médias (Tukey, 5%). Os componentes de covariância e herdabilidade e influência relativa do ambiente comum de alevinagem será estimado para cada característica separadamente, além das correlações genéticas entre as características de ganho de peso e parâmetros fisiológicos.

Para estimar os componentes de (co)variâncias bem como predizer os valores genéticos dos animais para cada característica, serão utilizados procedimentos bayesianos, por meio das cadeias de Gibbs, resultantes de

2.000.000 ciclos com período de descarte de 100.000 ciclos e intervalo de retirada de 100 ciclos, utilizando-se o sistema computacional MTGSAM – Multiple Trait Gibbs Sampling to Animal Model (TASSEL; VLECK, 1996). A distribuição gama invertida será inicialmente utilizada como a priori dos componentes de variância. A convergência das cadeias será testada por meio do método Heidelberger e Welch (1981), descrito por Cowles, Best e Vines (1995), utilizando-se a biblioteca CODA implementada no sistema R (versão 2.13.2 – 2011).

Para as estimativas dos componentes de (co)variância e parâmetros genéticos, utilizou-se o sistema R for Windows versão 2.13.2 para estimar os intervalos de credibilidade de máxima densidade de probabilidade ou HPD (highest probability density) a 95%. O intervalo de credibilidade comumente utilizado na abordagem Bayesiana considera, na distribuição a *posteriori*, abas de igual credibilidade.

5. RESULTADOS

5.1- Experimento piloto

Não foi observada mortalidade nas unidades experimentais após a aplicação do estresse. Houve um aumento significativo na concentração de glicose no plasma em peixes estressados em comparação com o grupo controle ($25,9 \pm 5,6$ mg/dL), com o nível mais alto de glicose no plasma sendo observado no tempo de amostragem de 3 h ($57,8 \pm 19,2$ mg/dL), não retornando à amostragem basal após 24 h (Figura 08). Esses níveis foram maiores com 8 minutos ($53,96 \pm 16,07$ mg/dL) do que aos 4 minutos ($44,0 \pm 17,1$ mg/dL) de exposição aérea em todos os tempos de amostragem. Isso confirma a ativação do eixo cérebro-hipófise-interrenal que, conseqüentemente, aumentou o nível de glicose como uma adaptação ao estresse, fornecendo energia disponível rapidamente. O hematócrito foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo controle (basal) ($36,1 \pm 2,5\%$) do que nos peixes submetidos ao estresse ($32,6 \pm 3,1\%$), indicando que o estresse pela exposição ao ar causou uma hemodiluição, não retornando à condição basal após 24 h.

Desta forma, a exposição aérea causou alterações na glicose plasmática e no hematócrito. Os dados deste experimento foram utilizados para

fundamentar a metodologia aplicada no experimento principal para avaliação dos parâmetros de resposta ao estresse em diferentes famílias de tilápia do Nilo.

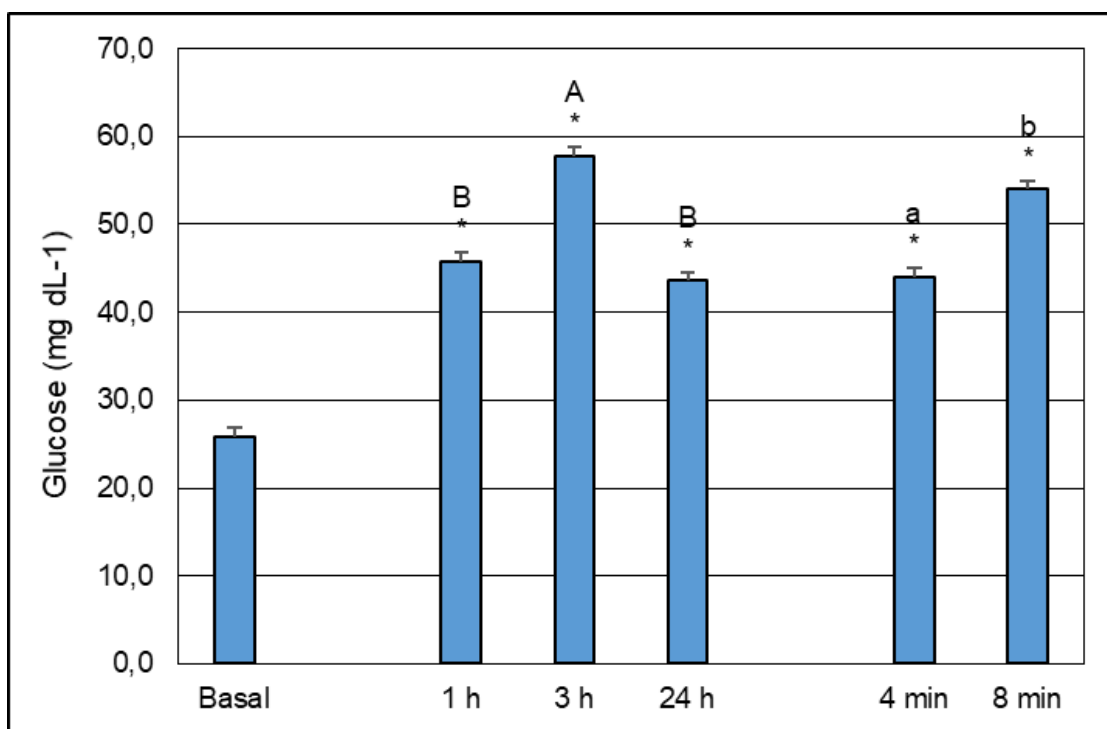


Figura 8. Concentração de glicose no plasma em juvenis de tilápia submetidos à exposição ao ar por 4 e 8 minutos. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre as amostragens pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tempos de exposição aérea pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

5.2- Experimento principal

As médias dos parâmetros de crescimento e ganho de peso estão na Tabela 2. Na análise de variância, foram observadas diferenças significativas no peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), taxa de crescimento específico (TCE) e coeficiente de crescimento térmico (CCT) entre as diferentes famílias ($p < 0,05$). Como pode ser observado na Figura 09, as famílias 07 e 03 foram as que apresentaram maior ganho de peso ao longo dos 60 dias de experimento. A conversão alimentar apresentou uma amplitude considerável entre as unidades experimentais (de 1,24 a 1,36), apesar de não ter sido possível quantificar o consumo de ração por família, uma vez que os peixes de todas as famílias foram mantidos nos mesmos tanques.

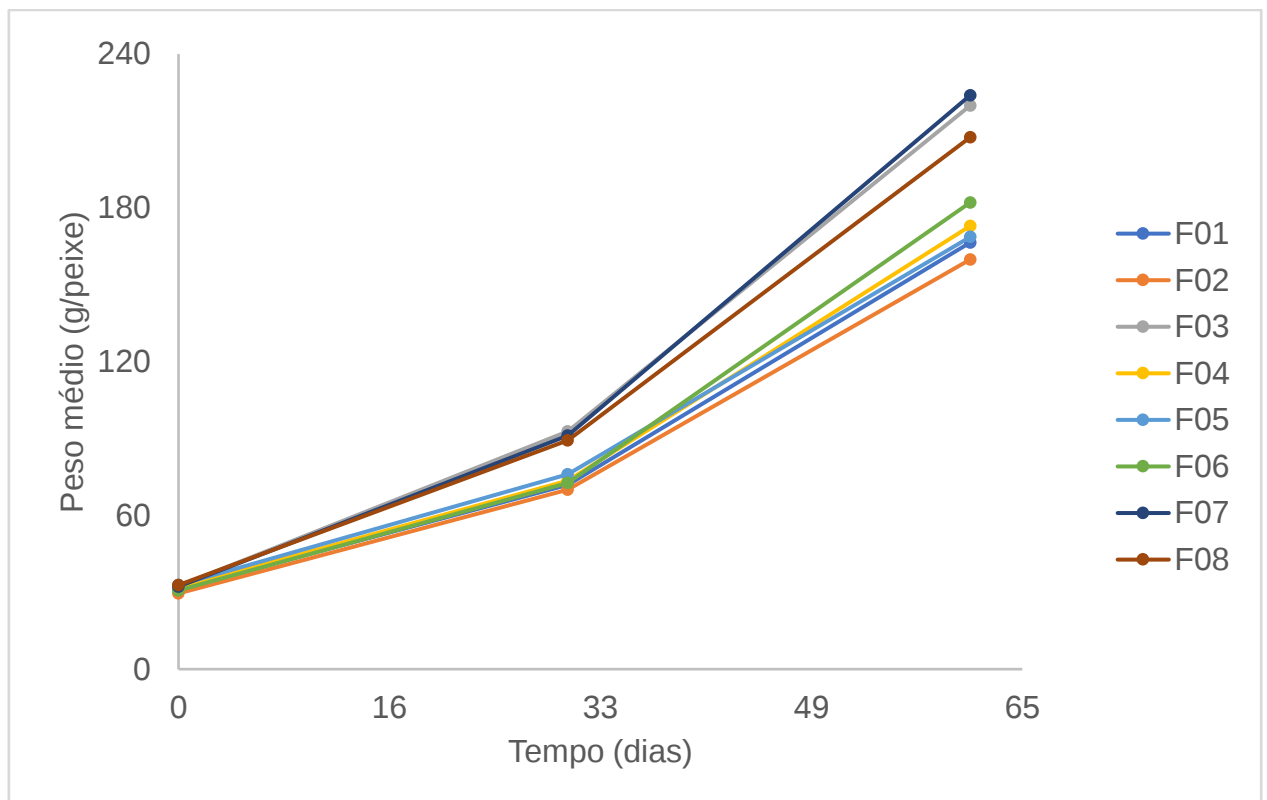


Figura 09. Médias de peso de cada família de tilapia do Nilo nas três biometrias ao longo de 60 dias de avaliação.

Tabela 2. Peso final (PF, g), ganho de peso diário (GPD, g/dia), taxa de crescimento específico (TCE, %/dia), e coeficiente de crescimento térmico (CCT) de cada uma das 8 famílias de tilápia do Nilo avaliadas no projeto.

Variáveis	Famílias								EPM	Valor p
	1	2	3	4	5	6	7	8		
PF	167,0 ± 11,9cd	161,8 ± 8,4d	228,3 ± 18,9a	167,7 ± 9,0cd	169,6 ± 9,0c	171,5 ± 12,2c	225,6 ± 12,2a	204,5 ± 8,9b	1,50	<0,0001
GPD	2,2 ± 0,4cd	2,1 ± 0,4d	3,1 ± 0,6ab	2,3 ± 0,4cd	2,2 ± 0,3cd	2,4 ± 0,5c	3,2 ± 0,4a	2,9 ± 0,3b	0,03	<0,0001
TCE	2,7 ± 0,2c	2,7 ± 0,2c	3,1 ± 0,3ab	2,8 ± 0,2c	2,7 ± 0,2c	2,7 ± 0,6c	3,2 ± 0,2a	3,0 ± 0,2b	0,01	<0,0001
CCT	0,14 ± 0,01c	0,14 ± 0,01c	0,17 ± 0,01ab	0,14 ± 0,01c	0,14 ± 0,00c	0,14 ± 0,02c	0,17 ± 0,01a	0,16 ± 0,00b	0,001	<0,0001

Os dados são apresentados como a média ± erro padrão da média (EPM). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey (p<0,05)

Tabela 3. Parâmetros fisiológicos das 8 famílias de tilápia do Nilo sem aplicação do estresse (A) e após serem submetidas ao estresse (D) por exposição aérea.

Variáveis	Família								Estresse		SEM	Two way Anova		
	1	2	3	4	5	6	7	8	A	D		Família	Estresse	FxE
Cortisol (ng/ml)	180,3 ± 87,1 ^b	186,1 ± 75,9 ^b	155,6 ± 62,2 ^b	245,6 ± 99,9 ^a	199,8 ± 87,0 ^{ab}	230,4 ± 86,0 ^{ab}	182,4 ± 79,1 ^b	207,7 ± 104,3 ^{ab}	204,6 ± 74,5	195,4 ± 96,0	4,70	<0,001	0,279	<0,001
Glicose (mg/dL)	74,8 ± 21,3 ^{ab}	93,2 ± 10,6 ^a	47,90 ± 14,9 ^b	74,9 ± 22,1 ^{ab}	68,4 ± 13,8 ^{ab}	74,8 ± 14,6 ^{ab}	74,0 ± 28,2 ^{ab}	66,1 ± 11,8 ^{ab}	59,3 ± 17,1 ^b	78,2 ± 58,9 ^a	2,62	<0,001	<0,001	0,892
Lactato (mg/dL)	29,5 ± 3,1 ^a	29,2 ± 2,9 ^{ab}	26,1 ± 2,6 ^{cd}	27,8 ± 2,5 ^{bc}	25,2 ± 3,0 ^d	30,9 ± 5,5 ^a	26,1 ± 2,8 ^{cd}	28,0 ± 2,86 ^{ab}	29,2 ± 4,4 ^a	27,1 ± 3,2 ^b	0,198	0,02	<0,001	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	9,8 ± 1,3 ^a	9,5 ± 1,1 ^a	8,3 ± 1,6 ^c	9,3 ± 1,5 ^{ab}	9,4 ± 2,0 ^a	8,7 ± 0,83 ^{bc}	8,7 ± 1,9 ^{bc}	9,3 ± 2,0 ^{ab}	10,51 ± 1,5 ^a	8,5 ± 1,3 ^b	0,207	0,01	<0,001	<0,001
Hematócrito (%)	39,1 ± 5,7	38,2 ± 5,6	37,1 ± 5,3	38,2 ± 5,5	37,9 ± 5,8	39,4 ± 4,8	44,1 ± 48,8	38,2 ± 6,0	36,8 ± 4,3	40,2 ± 2,3	0,973	0,386	0,090	0,466
Burst (abs. 540nn)	0,56 ± 0,1 ^{ab}	0,55 ± 0,1 ^{ab}	0,53 ± 0,1 ^b	0,61 ± 0,1 ^a	0,56 ± 0,1 ^{ab}	0,55 ± 0,1 ^{ab}	0,58 ± 0,1 ^{ab}	0,58 ± 0,1 ^{ab}	0,51 ± 0,1 ^b	0,59 ± 0,1 ^a	0,005	0,004	<0,001	0,211

Os dados são apresentados como a média ± erro padrão da média (EPM). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). A coluna ;"Estresse" considera todas as famílias, onde "A" corresponde ao grupon a condição basal (sem a aplicação do estresse), e "D" se refere a aplicação do estresse por exposição aérea.

Tabela 4. Desdobramento das interações entre as 8 famílias tilápia do Nilo e a aplicação do estresse.

Variável	Estresse	Família							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Cortisol (ng/ml)	A	110.1 ± 26.1cB	230.2 ± 45.0abA	156.3 ± 44.9bc	161.3 ± 49.6bcB	241.3 ± 82.4abA	268.2 ± 50.5aA	234.3 ± 61.4abA	236.5 ± 63.9ab
	D	214.3 ± 86.1bA	166.1 ± 79.0bB	155.2 ± 70.5b	287.8 ± 91.9aA	177.7 ± 82.3bB	212.8 ± 93.9bB	156.5 ± 74.8bB	192.8 ± 78.18b
Lactato (mg/dL)	A	31.4 ± 2,7bA	26.5 ± 2.0dB	25.8 ± 1.7d	30.1 ± 2.0bcA	27.4 ± 3.9cdA	37.6 ± 1.5aA	28.2 ± 3.0cdA	27.6 ± 4.04cd
	D	28.6 ± 3.0abB	30.5 ± 2.4aA	26.2 ± 3.0de	26.6 ± 1.8cdeB	24.0 ± 1.4fB	27.8 ± 3.5bcdB	25.1 ± 2.0 efB	28.3 ± 2.0bc
Hemoglobina (g/dL)	A	10.8 ± 1,0bcA	9.8 ± 1.2cd	10.2 ± 1,0bcA	10.9 ± 1.2abcA	12.2 ± 1.1aA	8.7 ± 0,5d	9.9 ± 1.4cdA	11.2 ± 1.1abA
	D	9.2 ± 1.1aB	9.31 ± 1,0a	7.3 ± 0.7cB	8.5 ± 0.8abB	8.4 ± 0.8abB	8.7 ± 1,0ab	8.1 ± 1.9bcB	8.3 ± 1.7bB

Os dados são apresentados como a média ± erro padrão da média (EPM). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por letras maiúsculas na coluna diferem pela análise de variância entre a condição basal sem estresse (A) e a aplicação do estresse por exposição aérea (D)

Na Tabela 3 pode ser observado que os níveis de cortisol, lactato e hemoglobina apresentaram interação significativa entre família e aplicação do estresse agudo ($p < 0,05$). Para estes parâmetros foi realizado o desdobramento da interação cujos detalhes estão apresentados na tabela 04. Dentre os parâmetros que não apresentaram interação entre os efeitos de estresse e família estão: Glicose, hematócrito e BURST oxidativo.

Para Glicose, a família 02 ($93,2 \text{ mg dL}^{-1}$) foi a que apresentou os níveis mais altos principalmente em comparação a família 03 ($47,90 \text{ md dL}^{-1}$) e menor valor de burst oxidativo na família 03 (0,53) em comparação a família 04 (0,61). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no hematócrito nem para a interação e nem para os efeitos isolados.

Quanto aos níveis de cortisol, foi observado que as famílias 01 e 04 apresentaram valores mais altos depois da exposição aérea do que antes desse estresse agudo. O contrário foi verificado para as famílias 02, 05, 06 e 07 que apresentaram níveis de cortisol significativamente mais baixos depois da aplicação do estresse do que na condição basal. As famílias 03 e 08 não apresentaram variações significativas dos valores de cortisol em função da aplicação do estresse agudo por exposição aérea. Em relação a análise de lactato, similarmente ao padrão encontrado para cortisol, as famílias 03 e 08 foram as únicas que não apresentaram diferenças significativas entre as análises deste parâmetro nos peixes antes e depois do estresse. Para este parâmetro, com exceção da família número 01 que apresentou mais lactato depois do que antes do estresse, todas as outras famílias (02, 04, 05, 06 e 07) apresentaram mais lactato antes do que depois do estresse. A hemoglobina apresentou um padrão geral de resposta similar entre as famílias, onde os níveis de hemoglobina ficaram maiores antes do estresse do que depois da exposição aérea. Estes resultados sugerem que houve hemodiluição decorrente da aplicação do estresse agudo.

Na Figura 10 podem ser observadas as médias dos valores de Valor Genético Aditivo (VGA) de glicose de cada família. As famílias 03, 07 e 08 apresentaram índices de VGA negativos para glicose, e as menores médias dos valores de glicose nas medições diretas deste parâmetro.

A comparação de médias de VGA de cada família realizada para cortisol (Figura 11) mostra que houve diferença relevante entre os valores médios para

cada família. Para glicose, as famílias 3 e 7 foram a que apresentaram valores negativos de VGA. Estas foram também as famílias que apresentaram melhores taxas de crescimento, com destaque para a família 03 que apresentou o valor de VGA de -0,61 para glicose.

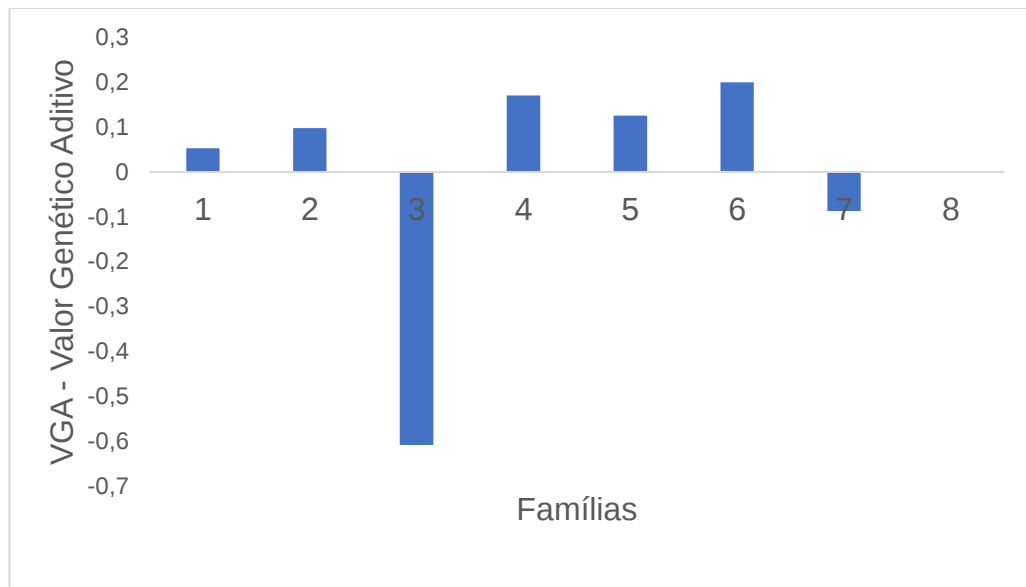


Figura 10. Valor genético aditivo (VGA) médio do nível de glicose analisado por família.

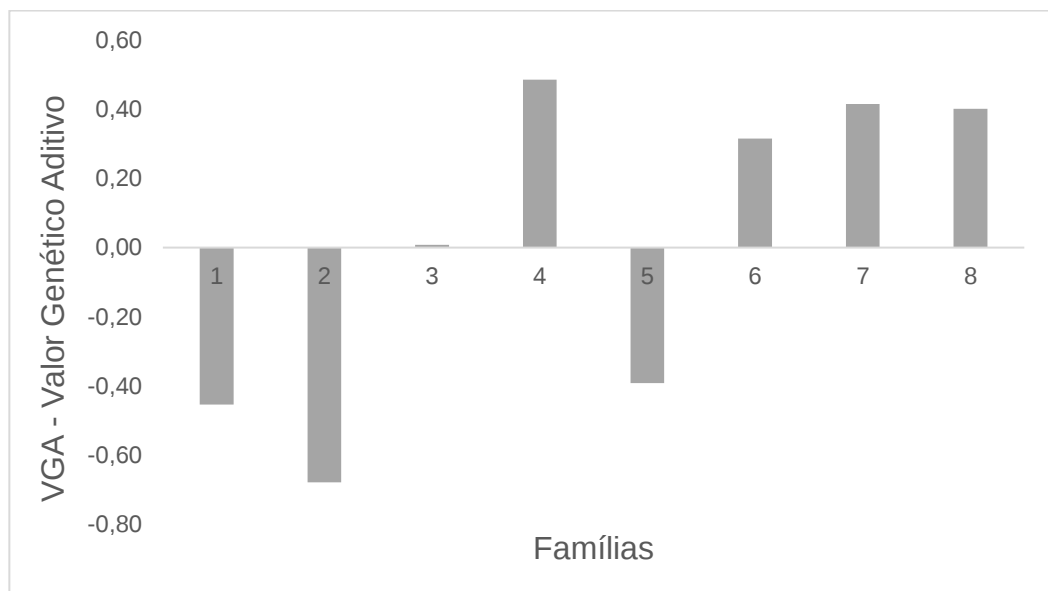


Figura 11. Valor genético aditivo (VGA) médio do nível de cortisol analisado por família.

A correlação negativa entre as médias por família, dos níveis de glicose e peso final pode ser observada na Figura 12. Este resultado corrobora a hipótese de que peixes que apresentam menores alterações nos níveis de glicose após o estresse agudo são das famílias que alcançaram as maiores médias de peso final durante o período de avaliação. A Figura 13 mostra que houve uma correlação positiva entre as médias dos valores diretos medidos de glicose e cortisol de cada família. Isto sugere que houve a ativação da via metabólica responsável pelas respostas ao estresse medidas por estes dois parâmetros.

A herdabilidade (h^2) para peso final foi de 0,199, o que é considerado um valor moderado, porém o valor do efeito de alevinagem foi de 0,35, o que indica que as condições anteriores ao experimento podem ter influenciado no resultado final (Tabela 5). Já o valor de herdabilidade de 0,160 obtida para resposta da glicose teve interferência moderada dos efeitos de alevinagem (w^2), uma vez que o valor do mesmo ficou em 0,15. A herdabilidade de 0,22 encontrada para cortisol também é considerada moderada e teve pouca influência do efeito de alevinagem que ficou em 0,04 para esta característica.

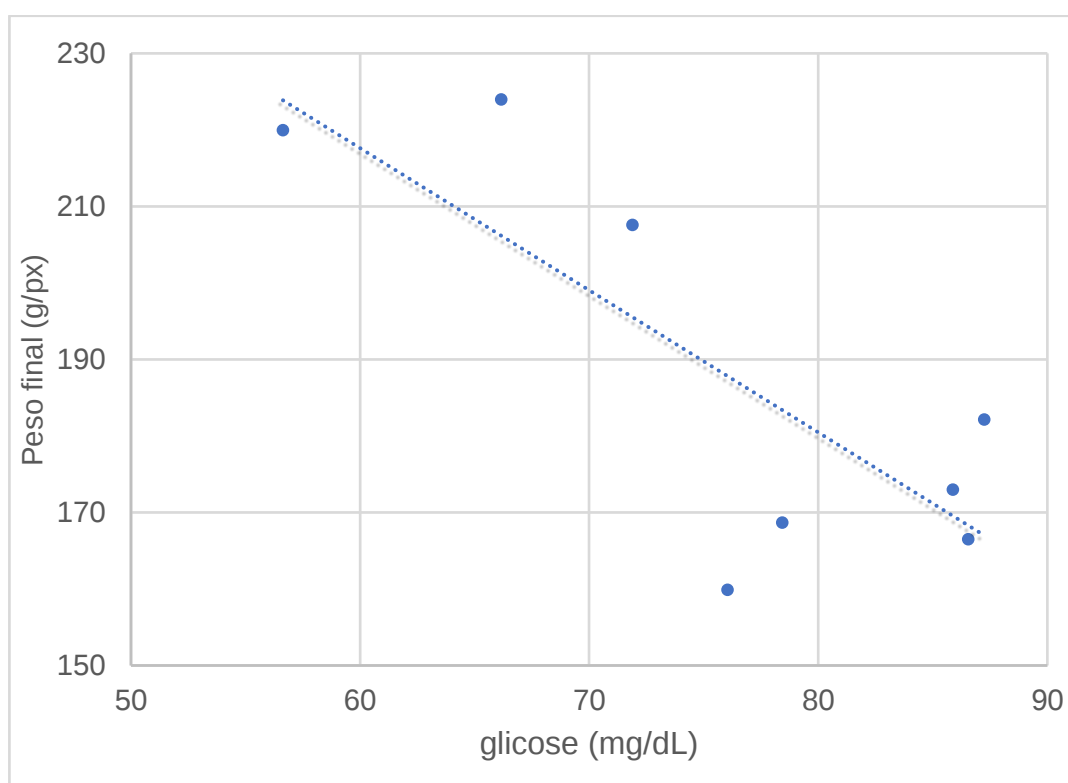


Figura 12. Correlação entre as médias de peso final e nível de glicose das famílias de irmãos e meio irmãos ($R^2 = - 0,625$).

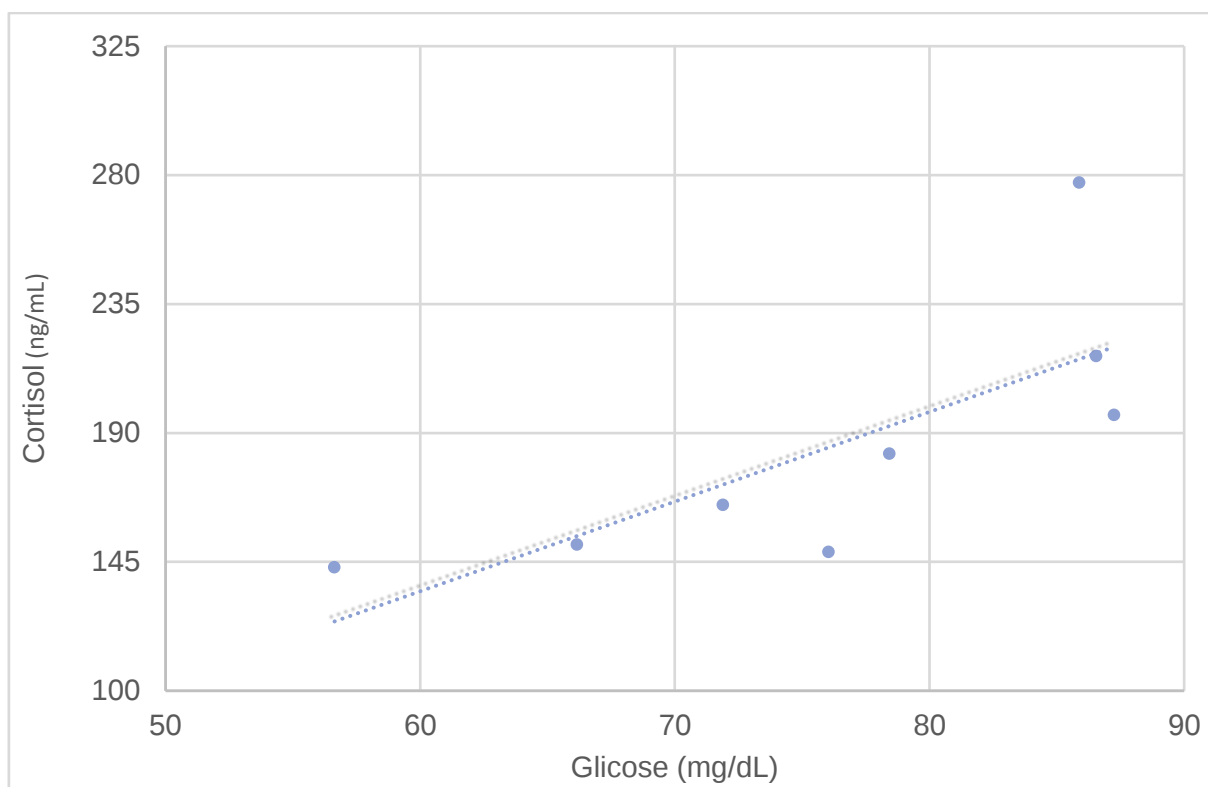


Figura 13. Correlação entre as médias dos valores de glicose e cortisol de cada família de irmãos e meio irmãos ($R^2 = 0,75$).

Tabela 5 - . Estimativas de herdabilidade (h^2), e efeitos de alevinagem (w^2) para peso final, glicose e cortisol com intervalo de credibilidade; e correlação genética entre os parâmetros. Intervalo de credibilidade de 0,05 a 0,95.

	h^2	w^2	Intervalo de credibilidade
Peso final	0,199	0,37	0,12 – 0,93
Glicose	0,160	0,15	0,02 – 0,67
Cortisol	0,220	0,04	0,03 – 0,77
Correlação genética Peso/Glicose	0,51		
Correlação genética Peso/Cortisol	0,50		

6- DISCUSSÃO

Até o presente momento, não se tem conhecimento de estudos que determinem a herdabilidade da resposta ao estresse medida pelo nível de glicose ou cortisol em tilápias. A herdabilidade de 0,160 encontrada para a análise de glicose é um valor moderado e indica que este parâmetro pode proporcionar ganhos genéticos consideráveis quando realizada uma pressão de seleção de reprodutores levando em conta esta característica (Tabela 5). Estes valores ficaram acima de 0,07 encontrados para resposta ao estresse medida pelo nível de glicose em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e 0,1 para salmão do Atlântico (*Salmo Salar*) (Fevolden, 1993). O valor de 0,220 obtido da estimativa de herdabilidade dos níveis de cortisol também é um valor moderado. Este valor fica consideravelmente acima da estimativa de 0,08 obtido em estudos que medem a herdabilidade dos níveis de cortisol para Salmão do Atlântico, porém abaixo de 0,26 obtido para truta arco-íris (Fevolden, 1993) e de 0,60 obtido com carpa húngara (*Ciprinus carpio*) (Tank, 2001). As divergências dos valores de herdabilidade de glicose e cortisol, em relação a outros estudos, podem ser explicadas pelas diferenças genéticas entre as espécies e pela distinção na metodologia de aplicação do estresse e coleta amostral adotada em cada experimento (Volckaert, 2001). O efeito comum de alevinagem (w^2) se manteve em 0,15 para glicose e 0,04 para o parâmetro de cortisol, indicando que o ambiente comum onde a família ficou estocada antes do experimento teve pouca influência para as análises de cortisol, porém uma interferência considerável para glicose.

Os resultados da análise direta de glicose obtidos nesse trabalho ficaram próximos dos obtidos por Fevolden (1991) (68,1 mg/dL) que aplicou o estresse em truta arco-íris, porém abaixo do pico de 103,5 mg/dL encontrado por da Silva (2021), que aplicou protocolo de exposição aérea em tilápias. Os valores encontrados de 47,9 a 74,9 mg/dL para análise de glicose neste trabalho ficaram acima de 37,2 mg/dL encontrado por Cnaani (2004) que realizou a coleta do sangue de tilápias do Nilo 2,5 h após a aplicação de exposição aérea de 5 min. Estas diferenças mostram que o presente trabalho atingiu o objetivo de provocar respostas fisiológicas mensuráveis, aos peixes, diante de um agente estressor.

As diferenças das médias dos valores de cortisol, glicose, lactato e hemoglobina entre as 8 famílias ($p < 0,05$) (Tabela 3) sugerem que pode haver diferença genética no grau de ativação do eixo intrarrenal-pituitário-cerebral entre os peixes das famílias no momento da coleta. Isto fica ilustrado na Figura 14 que mostra a correlação positiva ($R^2 = 0,75$) entre as médias dos valores de glicose e cortisol das famílias avaliadas.

Na Tabela 4 podemos observar que a família 03 que apresentou as melhores médias de peso final, apresentou baixos valores de cortisol tanto antes quanto depois da exposição aérea. Verifica-se também que a família 04, que apresentou taxa de crescimento médio mais baixa em relação às outras, apresentou altos níveis de cortisol após a exposição aérea. Estes resultados estão em concordância com as observações realizadas por Pottinger (2006), que verificou que o grupo de salmonídeos com menores níveis de resposta ao estresse medida pelo nível de cortisol teve melhor eficiência alimentar que o outro grupo, onde se verificou maiores níveis de cortisol após estresse por transporte.

No entanto podemos verificar na Tabela 04 que as famílias 07 e 08 apresentaram níveis de cortisol mais altos antes do estresse do que depois da exposição aérea; e também boas taxas de crescimento. Isto sugere que os peixes já estariam sob o efeito de um estresse crônico devido às densidades de estocagem consideráveis ($>10 \text{ kg/m}^3$). Além disso, os peixes tiveram o espaço reduzido pela utilização de um bolsão de tanque-rede nos últimos 15 dias antes da aplicação do estresse agudo. Para estas famílias, este estresse crônico pode ter causado uma exaustão do sistema de resposta interrenal-pituitário-cerebral, que não permitiu a manifestação das respostas esperadas com a exposição aérea. Uma das hipóteses a ser investigada é a de que o nível de cortisol favorece a agressividade de peixes que comem mais em um ambiente de cultivo intensivo e conseqüentemente apresentam melhores taxas de crescimento. Porém esses mesmos peixes acabam tendo o seu sistema de resposta ao estresse reagindo à exaustão de forma a aumentarem as chances de redução do sistema imune e propensão à doenças.

O aumento no nível de glicose e cortisol fazem parte da resposta secundária ao estresse (Wendelaar Bonga, 1997) e configuram o início de uma cascata de reações fisiológicas que pode culminar com a depreciação do

sistema imune dos peixes e consequente prejuízos dentro do sistema produtivo. Peixes com melhor resposta ao estresse devem ter maior flexibilidade de adaptação às condições desafiadoras no cultivo. A geração de lotes mais tolerantes ao estresse, pode ser uma forma indireta de aumentar a tolerância a outros fatores como resistência a doenças (Afonso et al., 1998). Os benefícios de se selecionar peixes com menores níveis de resposta ao estresse vão desde sobrevivência diante de agentes patogênicos, até melhores resultados de conversão alimentar, ganho de peso e desempenho reprodutivo (Fevolden, 1991). Além de um melhor desempenho de produção, a utilização de uma variedade de peixes menos sensíveis ao estresse promove o bem-estar para os animais sendo cultivados.

A correlação negativa entre os valores médios por família do nível de glicose e peso final ($R = -0,625$) observada na Figura 10, indica que peixes que mobilizam para corrente sanguínea altos níveis de glicose devido ao estresse tendem a apresentar uma menor capacidade de retenção de energia em forma de biomassa. Vijayan (1997) concluiu em um estudo de avaliação de resposta ao estresse em tilápias, que a gliconeogênese hepática é o principal fator contribuindo para o aumento dos níveis de glicose no sangue.

Além das variáveis fisiológicas do plasma, foram realizadas análises hematológicas, consideradas grandes indicadores de resposta ao estresse, com destaque para hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio em vertebrados (Oba et al., 2009). Diferentemente do hematócrito, a hemoglobina apresentou diferenças significativas de níveis medidos entre as famílias pela análise de variância ($p < 0,05$). Para hemoglobina foram obtidos valores cujas variações acompanham os resultados obtidos para cortisol e glicose, onde a família 03 foi a que apresentou os menores índices deste parâmetro (Tabela 4). De acordo com Oba et al. (2009), o aumento dos níveis de hemoglobina indica que houve uma estimulação do transporte de oxigênio para proporcionar aos tecidos do organismo uma melhor possibilidade de reação diante de eventos estressantes. No entanto a redução dos níveis de hemoglobina pode sugerir que houve hemodiluição decorrente de alterações osmorregulatórias e incorporação de água nas células (McDonald, G.; Milligan, L., 1997)

A herdabilidade (h^2) para peso final ficou em 0,199, o que é próxima de 0,15 a 0,11 obtido por Yoshida (2013) e 0,21 apresentado por Santos et al.

(2011), porém abaixo de 0,38 e 0,60 encontrado por Charo-Karisa (2006) que avaliaram o desempenho das tilápias em viveiros escavados. O valor genético aditivo dos peixes avaliados neste experimento está intrinsecamente vinculado ao ambiente de cultivo em tanques de fibra que fazem parte de um sistema de recirculação e reuso parcial de água. Provavelmente os peixes selecionados para ganho de peso neste estudo não apresentarão o mesmo desempenho se forem cultivados em tanques escavados ou tanques-rede.

O fator de ambiente comum de alevinagem (w^2) para peso final foi elevado (0,35), o que sugere que a forma como foi realizada a alevinagem pode ter influenciado nos valores obtidos para ganho de peso. Isto pode acontecer em decorrência de que cada família foi criada separadamente em cada unidade experimental durante aproximadamente 60 dias antes de serem identificadas com o microchip e medidas na biometria inicial do experimento de avaliação de ganho de peso. Estes valores para efeito comum de larvicultura e alevinagem, também podem ter sido exacerbados em função do número relativamente reduzido número de famílias para esta análise estatística ($n=8$); o que não podia ser diferente em virtude do ineditismo da avaliação de parâmetros fisiológicos de resposta ao estresse entre diferentes famílias de tilápias do nilo.

O valor genético aditivo representa uma estimativa de quanto o fenótipo daquela característica pode ser determinada por fatores genéticos em vez de fatores ambientais ou externos. Neste estudo foram considerados o sexo, peso inicial e número do tanque como variáveis fixas na análise de valor genético. Podemos verificar na Figura 10 que a família 03 apresentou VGA consideravelmente mais baixo do que as outras famílias. Além disso a família 03 apresentou as melhores taxas de crescimento e quase não apresentou alteração nos níveis de cortisol antes e depois do estresse (Figura 04).

A correlação genética positiva entre os valores genéticos aditivos (VGA) dos níveis de glicose e peso final analisados por meio da estimativa dos valores genéticos aditivos no MTGSAM (0,51), indica a influência do alto valor do efeito de alevinagem para peso final na análise dos dados. Este valor consideravelmente elevado do efeito de alevinagem pode ser decorrente do número relativamente reduzido de famílias e ao fato de que as famílias foram mantidas separadas em tanques únicos antes de serem chipadas e colocadas juntas nas unidades experimentais. Por outro lado, por ser tratar de uma

pesquisa prospectiva que avalia o fator genético de uma característica ainda com poucos estudos realizados para peixes e ainda menos para tilápia, seria desnecessário utilizar uma elevada quantidade de famílias para obtenção de resultados consistentes que antecipam algum eventual programa de melhoramento genético.

Concluindo, a diferença das médias dos valores de cortisol, glicose, lactato e hemoglobina entre as famílias, bem como os valores moderados de herdabilidade obtidos para os níveis de cortisol e glicose, demonstram o grande potencial destes parâmetros de serem utilizados como critério na seleção de reprodutores. Os resultados do trabalho são de grande contribuição para o entendimento do fator genético da resposta ao estresse e sistema imune em peixes, o que possibilita iniciativas para o desenvolvimento de variedades de tilápia do Nilo menos sensíveis ao estresse.

7- REFERÊNCIAS

- ABREU, J. S. *et al.* 2009. Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. *Brazilian Journal of Biology*, 69 (2), p.415-421.
- AFONSO, J. M., *et al.* Selection programmes for stress tolerance in fish. *Cahiers Options Mediterraneennes (CIHEAM)*, 1998.
- ALURU, N.; VIJAYAN, M. M. 2009. Stress transcriptomics in fish: a role for genomic cortisol signaling. *General and Comparative Endocrinology*, 164 (2-3), p.142-150.
- ARENDS, R. J., *et al.* The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *Journal of Endocrinology*, 1999, 163.1: 149.
- BARCELLOS, L. J. G., *et al.* Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress. *Aquaculture Research*, 1999, 30.6: 437-444.
- BARCELLOS, L. J. G.; WOEHL, V. M.; WARSSEMANN, G. F.; QUEVEDO, R. M., ITTZES, I., KRIEGER, M.H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoi & Gaimard), a South American Catfish. *Aquacult Res*, v.32, p.121-123, 2001.
- BARROSO, R. M., Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais. *Embrapa Pesca e Aquicultura-Docmentos (INFOTECA-E)*, 2015 EMBRAPA.

BESSION, M. ; *et al.* The genetic correlation between feed conversion ratio and growth rate affects the design of a breeding program for more sustainable fish production. *Genetics Selection Evolution*, 2020, 52.1: 5.

CHARO-KARISA, H. *et al.* Heritability of cold tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. *Aquaculture*, 2005, 249.1-4: 115-123.

CNAANI, A.; *et al.* Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 2004, 35.15: 1434-1440.

CNAANI, A. Genetic perspective on stress response and disease resistance in aquaculture. 2006.

ELLIS, A. E. Immunity to bacteria in fish. *Fish & shellfish immunology*, 1999, 9.4: 291-308.

COWLES M.K., Best N. & Vines K. (1995) Convergence Diagnostics and Output Analysis, Version 0.40. MRC Biostatistics, Unit, Cambridge, UK.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Global aquaculture production statistics 2020. Rome: FAO, 2011. 256 p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Global Aquaculture Production Statistics database update to 2018. Fisheries and Aquaculture Department. 2020.

FEVOLDEN, S. E.; REFSTIE, T.; RØED, K. H. Selection for high and low cortisol stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 1991, 95.1-2: 53-65.

FEVOLDEN, S. E.; REFSTIE, T.; GJERDE, B. Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 1993, 118.3-4: 205-216.

HARRIS, J.; BIRD, D. J. Modulation of the fish immune system by hormones. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000, 77.3-4: 163-176.

KUBITZA, F. A evolução da tilapicultura no Brasil: produção e mercado. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 76, mar./abr. 2003.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; MALISON, J. A.; BARRY, T. P.; HELD, J. A. Effects of temperature on performance characteristics and the cortisol stress response of surubim *Pseudoplatystoma* sp. *J World Aquacult. Soc*, v.37, p. 89-95, 2006.

MAZEAUD, M. M.; E MAZEAUD, F. Adrenergic responses to stress in fish. *In*: "Stress in Fish" (A. D. Pickering, ed.). p, 49-75. Academic Press, New York. 1981.

MAZUR, C. F.; IWAMA, G. K. Effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma cortisol, and survival in wild and hatchery-reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 1993, 112.4: 291-299.

- McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWANA, G.K. *et al.* (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. New York: Cambridge, 1997, 62: 119-145.
- MERIGHE, G. K. F.; *et al.* Efeito da cor do ambiente sobre o estresse social em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2004, 33.4: 828-837.
- OBA, E. T.; MARIANO, W. dos S.; SANTOS, L. R. B. dos. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, 2009, 226-247.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. Stress response and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevations of plasma cortisol. *Fish Physiol Biochem*, v.7, p.253-258, 1989.
- PONZONI, R. W., *et al.* Inbreeding and effective population size in the Malaysian nucleus of the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 2010, 302.1-2: 42-48.
- ØVERLI, Øyvind *et al.* Selection for improved stress tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. ***Aquaculture***, v. 261, n. 2, p. 776-781, 2006.
- SANTOS, A.I.; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L.; MORA, F.; ALEXANDRE FILHO, L.; FORNARI, D.C.; OLIVEIRA, S.N. Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, p.33-43, 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000100005.
- SELYE, Hans. Stress and the general adaptation syndrome. *British medical journal*, 1950, 1.4667: 1383.
- TASSELL, C.P. VAN; VLECK, L.D. VAN. 1995. A Manual for Use of MTGSAM: A Set of FORTRAN Programs to Apply Gibbs Sampling to Animal Models for Variance Component Estimation (DRAFT). Department of Agriculture Research Service, Lincoln, NE, USA.
- TANCK, Michael WT, *et al.* Heredity of stress-related cortisol response in androgenetic common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 2001, 199.3-4: 283-294.
- VOLCKAERT, Filip AM, *et al.* Heritability of cortisol response to confinement stress in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics Selection Evolution*, 2012, 44.1: 1-5.
- WEDEMEYER, G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. New York: Chapman & Hall, 1996
- WENDEELAR-BONGA, S. E. The stress response in fish. *Physiol Rev*, v.77, p.591-625, 1997

VIJAYAN, Mathilakath M., et al. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 1997, 116.1: 89-95.

YOSHIDA, Grazyella Massako, et al. Associação entre características de desempenho de tilápia-do-nilo ao longo do período de cultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2013, 48.8: 816-824.