

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MICHELI GLESSE

AVALIAÇÃO DOS PADRÕES HEPATOLÓGICOS E HISTOMORFOMETRIA  
INTESTINAL DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)  
SUBMETIDOS A DIFERENTES TAXAS DE ALIMENTAÇÃO EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS

PALOTINA

2019

MICHELI GLESSE

AVALIAÇÃO DOS PADRÕES HEPATOLÓGICOS E HISTOMORFOMETRIA  
INTESTINAL DE JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)  
SUBMETIDOS A DIFERENTES TAXAS DE ALIMENTAÇÃO EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS

Monografia apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas no curso de graduação em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal do Paraná  
Setor Palotina.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro José de Almeida  
Bicudo

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Carolina Rosa da  
Silva

PALOTINA

2019

## AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar meu caminho, me dar saúde e força para executar este trabalho.

Aos meus pais por serem meu porto seguro, me incentivarem e fornecerem todo o suporte. Amo vocês!

Ao meu orientador Prof. Dr. Álvaro José de Almeida Bicudo e minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Carolina Rosa da Silva pela oportunidade, dedicação, confiança, paciência e conhecimento proporcionados.

Ao professor Dr. Milton Rönnau pelos ensinamentos e auxílio no processamento histológico das amostras.

As colegas “*bicudetes*” do grupo de pesquisa em Nutrição de Peixes por todos os momentos de trabalho “pesado” que a parceria tornou mais “leve”.

A Engenheira de Pesca Luciana Kelly Oliveira Silva por permitir o uso das amostras de seu experimento de mestrado e repasse de informações, muito obrigada!

Ao pessoal do Laboratório de Produção e Reprodução de Peixes (LAPERP) pelo auxílio da coleta dos materiais biológicos, pelo chimarrão e companhia nos momentos de estudo.

Aos amigos que fiz em Palotina, obrigada por todos os momentos compartilhados desde o início da graduação.

Sou grata a todos os mestres que foram fonte de inspiração nesta jornada.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná, por proporcionar um ensino gratuito de qualidade.

**“Este é o início do conhecimento:**

**a descoberta de algo**

**que não entendemos.”**

**~ Frank Herbert.**

## RESUMO

O estado nutricional e fisiológico dos peixes pode ser avaliado através da análise histológica dos tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o intestino e o fígado de juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes taxas de alimentação (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% da biomassa/dia) em sistema de bioflocos (BFT). Um tratamento adicional – peixes mantidos em sistema de recirculação de água clara (SRA) e taxa de alimentação de 10% da biomassa/dia – também foi avaliado. Foram distribuídos 360 juvenis ( $3,01 \pm 0,1g$ ) em 24 tanques de 50L (15 peixes/tanque). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. No final do período experimental (70 dias) foram coletados aleatoriamente três peixes por caixa, sacrificados por overdose de anestésico (benzocaína  $100mg/L^1$ ) e então retiradas amostras dos órgãos para as análises histológicas. Estas amostras passaram pelo processamento histológico tradicional e então pelo processo de coloração Hematoxilina-Eosina (HE) e Ácido Periódico de Schiff (PAS). As vilosidades intestinais, o número de células caliciformes e a densidade do volume da esteatose hepática foram influenciadas pelo incremento na oferta de alimento exógeno ( $p < 0,05$ ). O estudo mostrou que a morfologia intestinal foi influenciada conforme a necessidade de maior absorção de nutrientes. O número células caliciformes foi maior nos tratamentos em que ocorria a recirculação em bioflocos. A densidade do volume da esteatose hepática aumentou ( $P < 0,05$ ) proporcionalmente ao aumento da taxa de alimentação. Concluiu-se que a oferta mínima entre 5,0% e 6,0% da BM/d é necessária para garantir um desenvolvimento morfológico adequado do intestino de tilápias-do-nilo sem uma excessiva deposição de lipídios hepáticos.

Palavras chave: Taxa de alimentação. Nutrição. Histologia.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Sistemas experimentais instalados no mesmo ambiente. A – Sistema de recirculação em água clara (SRA). B – Sistema de recirculação em bioflocos (SRB). C – Macrocosmo.....21
- FIGURA 2. Segmento do intestino anterior da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) aberto longitudinalmente.....22
- FIGURA 3. Final do processo histoquímico da coloração das amostras por Hematoxilina e Eosina.....22
- FIGURA 4. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-nilo alimentada com 10% de biomassa e cultivada em SRB, com o sistema teste de 36 pontos sobreposto. Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra de escala de 50 µm.....24
- FIGURA 5. Fotomicrografia das vilosidades intestinais. Altura (A) - Largura (L). Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra de escala de 50 µm.....25
- FIGURA 6. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-nilo suplementada com 10% da biomassa cultivada no SRB. Setas: aumento de glicogênio nos hepatócitos. Coloração Hematoxilina-Eosina.....26
- FIGURA 7. Efeito de taxas de alimentação e densidade do volume da esteatose hepática (DVEH) de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e densidade do volume da esteatose hepática (DVEH) de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da DVEH de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados

em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....27

FIGURA 8. Efeito de taxas de alimentação e altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....29

FIGURA 9. Efeito de taxas de alimentação e largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....30

FIGURA 10. Efeito de taxas de alimentação e relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....31

FIGURA 11. Efeito de taxas de alimentação e densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....32

FIGURA 12. Fotomicrografias das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo de acordo com o tratamento. **A** – BFT 0%. **B** – BFT 2,5%. **C** – BFT 5,0%. **D** – BFT 7,5%. **E** – BFT 10%. **F** – AC 10%. Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra de escala 50µm.....33

FIGURA 13. Fotomicrografia das vilosidades do intestino anterior com destaque as células caliciformes. Aumento de 20x. Coloração Ácido Periódico de Schiff. Seta preta: células caliciformes. Barra de escala de 25 µm.....34

FIGURA 14. Efeito de taxas de alimentação e número de células caliciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e o número de células caliciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação do número de células caliciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....35

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
1.1 CONTEXTO E PROBLEMA.....	10
1.2 OBJETIVOS.....	11
1.2.1 Objetivo Geral.....	11
1.2.2 Objetivos Específicos.....	11
1.3 JUSTIFICATIVA.....	11
1.4 HIPÓTESES.....	12
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
2.1 PANORAMA DA AQUICULTURA.....	13
2.2 TILÁPIA-DO-NILO.....	14
2.3 TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS.....	15
2.4 HISTOLOGIA COMO MÉTODO DE ESTUDOS NUTRICIONAIS EM PEIXES...17	
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 PEIXES E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	20
3.2 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	21
3.3 PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS AVALIADOS.....	23
3.3.1 Determinação da densidade de volume da esteatose hepática.....	23
3.3.2 Análise histomorfométrica e densidade de vilosidades intestinais.....	24
3.3.3 Número de células caliciformes.....	25
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	25
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
4.1 DENSIDADE DO VOLUME DA ESTEATOSE HEPÁTICA.....	26
4.2 HISTOMORFOMETRIA DAS VILOSIDADES INTESTINAIS.....	28
4.3 NÚMERO DE CÉLULAS CALICIFORMES.....	34
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONTEXTO E PROBLEMA

A aquicultura brasileira se firmou como atividade econômica na produção de alimentos a partir de 1980, por possuir riqueza de espécies, diversos microclimas e áreas adequadas ao desenvolvimento da atividade (CAMARGO & POUHEY, 2005). Esta atividade, impulsionada pelo aumento da demanda por pescados, devido ao aumento populacional e outros fatores, tem levado a intensificação da produção (SIQUEIRA, 2018). Sistemas intensivos de produção são caracterizados por suportar altas densidades de estocagem, refletindo em alta produtividade, podendo alcançar até 150 kg/m<sup>3</sup>/ciclo, dependendo da espécie e estrutura utilizada (EMBRAPA, 2013). Por outro lado, a intensificação da produção acarreta em maiores custos de produção, estresse nos animais, surtos de doenças, uso de recursos naturais e produção de resíduos (EMBRAPA, 2013; YOUSEFIAN & AMIRI, 2009). Deste modo, a sustentabilidade dos cultivos intensivos deve ser trabalhada com atenção, considerando o conceito de aquicultura sustentável proposto por Valenti (2008): “Produção lucrativa de organismos aquáticos, mantendo uma interação harmônica duradoura com os ecossistemas e as comunidades locais”.

Espécies onívoras, como a tilápia-do-nylo, possuem melhor adaptação aos sistemas intensivos, pois além da maior flexibilidade alimentar, possuem especializações fisiológicas que a tornam a espécie mais utilizada para a aquicultura (EMBRAPA, 2013). Nos sistemas intensivos, o alimento natural não atende à demanda nutricional dos peixes estocados tornando essenciais a qualidade e quantidade ofertada de ração. Assim, a alimentação pode representar de 50% a 80% dos custos de produção das tilápias em sistemas intensivos (TOYAMA, CORRENTE & CYRINO, 2000). Em virtude da necessidade de mudanças na produção, em busca da sustentabilidade, melhores estratégias de cultivo, com uso racional dos recursos naturais são indispensáveis.

O sistema de bioflocos (BFT) é uma boa alternativa neste panorama de sustentabilidade da aquicultura. Além da possibilidade de reduzir os custos com alimentação, pela disponibilidade de alimento natural (bioflocos), permite alcançar alta produtividade em pequenas áreas, com uma baixa taxa de renovação de água (AVNIMELECH & KOCHBA, 2009; TAW, 2010).

Em qualquer sistema de produção, o propósito fundamental do piscicultor é o crescimento rápido, com boa conversão alimentar dos peixes (MINHOS & HONORATO, 2014). Entretanto, o crescimento de todos os órgãos e tecidos não ocorre de maneira simultânea, diferindo de acordo com o estágio fisiológico de desenvolvimento dos animais. Por isso, o estudo da anatomia e morfologia dos peixes auxilia no entendimento sobre o comportamento, hábito alimentar e estratégias adaptativas adotadas por estes animais (SILVA *et al.*, 2015). Por exemplo, estudos morfológicos do intestino podem diagnosticar se o desempenho do processo digestivo, absorptivo e metabólico foi afetado pelo ambiente e/ou pela dieta ofertada, e sua relação com o desempenho dos animais (LUNDSTEDT *et al.*, 2003). A avaliação de características morfológicas do fígado, órgão caracterizado como indicador ambiental, podem expressar respostas ao estresse e quanto ao excesso de determinados ingredientes na dieta ofertada, que podem acarretar em vacuolização dos hepatócitos, neoplasmas, inflamação, depleção de glicogênio e alteração no formato dos vasos sinusóides (FLORES-LOPES & MALABARBA, 2007).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes taxas de alimentação sobre as características histológicas do fígado e do intestino de juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em sistema de bioflocos.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar o grau de esteatose hepática em tilápias-do-nilo através da densidade do órgão em animais cultivados em sistemas de bioflocos sob diferentes taxas de alimentação;
- b) Avaliar a histomorfometria das vilosidades intestinais;
- c) Quantificar as células calciformes do intestino de tilápias-do-nilo cultivadas em sistemas de bioflocos sob diferentes taxas de alimentação;

### 1.3 JUSTIFICATIVA

O cultivo de tilápias em sistema de bioflocos apresenta muitas lacunas quanto ao manejo alimentar que deve ser utilizado, bem como a influência deste manejo sobre as características histológicas dos órgãos dos animais.

### 1.4 HIPÓTESES

A taxa de alimentação pode influenciar nas características histológicas do fígado e do intestino de juvenis de tilápia cultivados em bioflocos?

Apenas a presença do bioflocos é suficiente para garantir um adequado desenvolvimento histomorfofisiológico do fígado e intestino das tilápias?

A presença do bioflocos associado a ração favorece de alguma forma o desenvolvimento histomorfofisiológico do fígado e intestino das tilápias?

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 PANORAMA DA AQUICULTURA

A aquicultura é uma atividade essencial para a oferta de proteína orientada da piscicultura, uma vez que a produção de pescado proveniente da pesca (extrativismo) se encontra estável desde meados da década de 80 (FAO, 2018). Os ramos da aquicultura incluem a piscicultura (produção de peixes), a carcinicultura (produção de camarões), a ostreicultura (produção de ostras), a mitilicultura (criação de mexilhões) entre outros (KIRCHNER *et al.*, 2016). O mundo produziu 84 milhões de toneladas de peixes cultivados em 2018, sendo as tilápias (*Oreochromis niloticus*) o segundo grupo de espécies mais produzidas, atrás apenas das carpas (*Cyprinus carpio* L.) (FAO, 2018). A produção mundial de tilápias é liderada pela China, posteriormente Indonésia, Egito e o Brasil como quarto produtor mundial.

O Brasil possui recursos hídricos abundantes, grande extensão territorial e um clima benéfico, conferindo grande potencial para a aquicultura no país (SCHULTER & VIEIRA FILHO, 2017). Porém, o setor aquícola brasileiro ainda passa por alguns problemas como a dificuldade e demora para obtenção do licenciamento ambiental (PeixeBR 2019). Apesar disso, segundo a *Food and Agriculture Organization* o Brasil deve registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura até 2025 (FAO, 2016).

A piscicultura é o ramo mais representativo no país, no qual a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie mais cultivada, e foi introduzida na década de 70, juntamente com a tilápia-de-zanzibar (*O. urolepis hornorum*), procedentes da costa do Marfim, para impulsionar a piscicultura nas propriedades rurais brasileiras. Porém, esta tentativa foi frustrada principalmente devido a falta de tecnologias, como por exemplo, rações adequadas. Já nos anos 80 se expandiu a produção de espécies nativas, movida pelo crescimento dos pesque-pague além da criação de cursos de Pós-Graduação em Aquicultura no Brasil. Em meados da década de 90, foi iniciada a fase industrial, que teve por destaque a produção da tilápia e peixes redondos (pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*)) (CYRINO, 2004).

Em 2018, o Brasil produziu 722.560 toneladas de peixes em cativeiro, sendo 400.280 toneladas de tilápias, consolidando um crescimento de 11,9% em relação ao

ano anterior. O estado do Paraná responsável é por 32,5% (123.000 t) deste volume, sendo o maior produtor de tilápias no Brasil.

Devido ao aumento populacional, a demanda por pescados tende também a aumentar, exigindo melhorias nos sistemas de produção, que deverão conciliar o lucro para o produtor, ser acessível à população e minimizar o impacto ambiental. Ou seja, deve-se embasar em três pilares, a produção lucrativa, a preservação do meio ambiente e o desenvolvimento social. Portanto, a aquicultura deverá utilizar racionalmente os recursos naturais, gerar renda e criar postos de trabalho, para promover o desenvolvimento social e econômico (NAYLOR *et al.*, 2000; VALENTI, 2000).

## 2.2 TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)

As tilápias são representantes da ordem dos Perciformes, família Cichlidae e originárias da África, Israel e Jordânia (EMBRAPA, 2013). Podem ser produzidas em sistemas extensivos, semi-intensivos, intensivos e superintensivos, como tanques de alto fluxo (“raceways”), canais de irrigação, gaiolas flutuantes, sistemas fechados de recirculação simples ou integrados com hidroponia (aquaponia), ao ar livre, estufas plásticas, sistemas de recirculação em bioflocos, etc (CYRINO, 2004).

As tilápias possuem coloração acinzentada e corpo comprimido lateralmente, com linha lateral dividida em dois segmentos. Suporta grande amplitude térmica (14 a 33°C), possui crescimento acelerado, tolera relativa variação nos parâmetros físico-químicos da água, possui alta resistência ao estresse e a doenças, alta prolificidade e plasticidade alimentar (EMBRAPA, 2013; EL-SAYED, 2006). Além disso, sua carne contém boas características organolépticas e é passível de processamento industrial para obtenção de filés sem espinhas (FURUYA, 2010).

A tilápia-do-nylo é a espécie mais importante no Brasil, onde a produção passou progressivamente de criação extensiva em tanques de terra para criação mais intensiva em tanques-rede e escavados (SCHULTER & VIEIRA FILHO, 2017; FURUYA, 2013). Conforme se desenvolve a intensificação na produção, a busca pela máxima eficiência alimentar cresce paralelamente. Para isso, é necessário a utilização de fontes proteicas de qualidade, com alta digestibilidade e bom balanço de

aminoácidos, obtendo assim máxima incorporação e bom aproveitamento para o crescimento corporal e desempenho dos animais (COLPINI *et al.*, 2017). Assim, a produção da tilápia apresenta vantagens, pois tem capacidade de aproveitar o alimento natural, tolera altos níveis de carboidratos e permite o uso de rações com elevados valores de inclusão de fontes alternativas de proteínas (SILVEIRA, LOGATO & PONTES, 2009; FURUYA, 2007).

A tilápia-do-nilo requer ingestão de macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) e micronutrientes (vitaminas e minerais) e apresenta exigências nutricionais distintas nas diferentes fases de desenvolvimento. Na fase juvenil possui exigência de 30-40% de proteína, 6-8% de lipídios, além das vitaminas essenciais e dos minerais que absorve da água, como o cálcio, magnésio, ferro, sódio, potássio, cobre, zinco e selênio, além de poder ser alimentada com 30-40% de carboidratos (BALDISSEROTTO, CYRINO & URBINATI, 2014; MJOUN, ROSENTRATER & BROWN, 2010; FURUYA, 2013).

### 2.3 TECNOLOGIA DE BIOFLOCOS

De maneira global existe um crescente interesse em estudo de práticas “ambientalmente amigáveis” na produção aquícola, principalmente ligadas a redução do uso de bens ambientais finitos como a água. Segundo Rocha *et al.* (2012) “*dentre as alternativas de produção nesse sistema destaca-se a criação em bioflocos*”, também designado pela sigla BFT *Biofloc Technology*. Desenvolvido no início dos anos 70, o sistema BFT foi inicialmente aplicado para o cultivo de camarões no Ifremer-COP (French Research Instituto de Exploração do Mar, Centro Oceânico do Pacífico), e em 1988 foi destinado a aplicação comercial no Taiti (EMERENCIANO *et al.*, 2011).

A criação em BFT tem se desenvolvido por apresentar muitas vantagens, como maior produtividade, utilização de menores áreas de cultivo, maior utilização de alimentos naturais, que resulta em diminuição da quantidade de resíduos nos efluentes (WASIELESKY, 2013; CAVALCANTE *et al.*, 2017). Do ponto de vista da sustentabilidade, o principal aspecto do BFT é a baixa necessidade de renovação da água (LONG *et al.*, 2015) e a melhora da qualidade da água através da ciclagem de nutrientes pelas bactérias nitrificantes, removendo compostos nitrogenados (amônia

e nitrito) da água (SCHVEITZER *et al.*, 2013). Além disso, o biofloco e seus compostos derivados (ácidos orgânicos, poli-hidroxi-acetato e poli-hidroxi-butirato) resistem ao crescimento de outros patógenos, servindo como um probiótico natural e imunoestimulante (AHMAD *et al.*, 2017). Porém, quando comparado a outros sistemas, o sistema BFT apresenta algumas desvantagens como maior custo de instalação, maiores gastos de energia (aeração), maior custo operacional e acúmulo de fósforo no sistema (WASIELESKY *et al.*, 2013).

Os bioflocos são compostos por bactérias, protozoários, metazoários, microalgas, cianobactérias, larvas de invertebrados e fezes (EMERENCIANO *et al.*, 2007). A sua formação ocorre quando a relação carbono/nitrogênio é mantida em torno de 15-20:1 (WASIELESKY *et al.*, 2013). Assim, o carbono juntamente com o oxigênio abundante na água ocasiona o surgimento de bactérias secretoras de muco, propiciando a agregação dos flocos. Para haver o crescimento e desenvolvimento contínuo dos flocos, estes dependem do fornecimento de substratos externos (alimentação, atividade de algas) e/ou excreção de componentes da alimentação não utilizadas pelos peixes (AVNIMELECH, 2007).

A intensidade dos bioflocos dependem de alguns fatores como a capacidade de consumo pelos peixes, a intensidade luminosa, a predação e/ou competição do substrato com as bactérias e outros organismos (EMERENCIANO, GAXIOLA & CUZO, 2013). Um dos fatores essenciais para obter bons resultados no BFT é manter os níveis de oxigênio dissolvido na água acima de 4 mg de oxigênio/L e a temperatura da água entre 27 e 32°C, que reflete no aproveitamento alimentar pelos peixes e melhor digestão dos alimentos ingeridos (AVNIMELECH, 2011; MINHOS & HONORATO, 2014).

Os macroagregados (bioflocos) constituem-se em uma abundante fonte natural de proteínas e lipídios disponíveis *in situ* 24 horas por dia na dieta das espécies cultivadas (AVNIMELECH, 2007; LONG *et al.*, 2015). Segundo Avnimelech (2011), os peixes cultivados em BFT alcançam maior uniformidade de tamanho devido a alimentação semi-contínua disponível com bioflocos diminuir a competição dos peixes pelo alimento. Entretanto, a temperatura da água é um fator importante pois irá influenciar na digestão dos alimentos ingeridos, impactando assim na disponibilidade de substrato para o bioflocos (AVNIMELECH, 2011; MINHOS & HONORATO, 2014).

## 2.4 HISTOLOGIA COMO FERRAMENTA DE ESTUDOS NUTRICIONAIS EM PEIXES

Os sistemas intensivos causam impacto a saúde das espécies, devido ao elevado uso de rações balanceadas e as altas densidades de estocagem utilizadas. Na piscicultura intensiva os peixes estão constantemente expostos a situações de estresse, que alteram a estrutura de diferentes órgãos, como intestino, fígado e brânquias (FALCON *et al.*, 2007; OLIVEIRA, 2009). Estas alterações podem comprometer estruturas funcionais relacionadas diretamente a saúde dos peixes, e podem ser diagnosticadas através da análise histológica dos tecidos (EMBRAPA, 2013; EMBRAPA, 2009).

O crescimento dos peixes depende da digestão e da absorção de nutrientes, bem como das suas interações metabólicas e ajustes morfológicos (STECH, CARNEIRO & PIZAURO JÚNIOR, 2009). O intestino dos peixes se inicia na válvula pilórica e termina no reto, não sendo diferenciado em delgado e grosso, como nos mamíferos. Porém, a região proximal do intestino possui maior capacidade de digestão e absorção dos nutrientes, enquanto na distal ocorre a absorção de íons e água (EMBRAPA, 2013). Peixes carnívoros possuem intestino curto, pois predomina na sua dieta alimentos de alto valor nutritivo. Por outro lado, espécies herbívoras e onívoras possuem intestino comparativamente mais longo que os carnívoros, permitindo que o alimento esteja por mais tempo em contato com as enzimas digestivas, para compensar o baixo valor nutricional dos alimentos ingeridos (BALDISSEROTTO, CYRINO & URBINATI, 2014; ROTTA, 2003).

A parede do trato digestório dos peixes é histologicamente semelhante à dos vertebrados superiores. É constituída por quatro camadas básicas: (i) mucosa: constituída por células epiteliais colunares, apoiadas em tecido conjuntivo frouxo, formando grandes pregas onduladas; (ii) submucosa: camada de tecido conjuntivo que dá sustentação a mucosa; (iii) túnica muscular: composta por duas camadas de músculo que ajudam na movimentação do conteúdo do lúmen; e (iv) serosa: formada internamente por tecido conjuntivo frouxo e externamente por uma camada de células epiteliais pavimentosas, revestindo externamente o sistema gastrointestinal (BALDISSEROTTO, CYRINO & URBINATI, 2014).

As alterações morfológicas em função da dieta não se resumem apenas a aspectos macroscópicos dos órgãos. Microscopicamente observa-se as

microvilosidades do intestino, cuja função é aumentar a área superficial para absorção de nutrientes (BALDISSEROTTO; CYRINO; URBINATI, 2014). A mensuração de parâmetros morfométricos destas vilosidades, como a altura e largura, pode ajudar a avaliar a integridade da mucosa intestinal e detectar possíveis alterações decorrentes da dieta (FERREIRA *et al.*, 2014). Por exemplo, HONORATO *et al.* (2011) registraram aumento na altura das vilosidades intestinais de tilápias-do-nilo alimentados com dietas contendo maiores porcentagens de proteínas de origem animal.

Outro fator importante a se observar no intestino é o número de células caliciformes. Em peixes, a quantidade de células caliciformes pode variar de acordo com a região do intestino, da espécie e da dieta do animal (CRUZ, 2013). O trabalho de HONORATO *et al.* (2011) registrou aumento de células caliciformes devido ao aumento da proteína dietética ofertada a tilápia-do-nilo, demonstrando que a espécie pode adaptar seu sistema de secreção para a proteção durante a absorção de proteínas.

Um importante órgão que reflete o estado da saúde dos peixes é o fígado. O fígado da tilápia é um órgão denso com coloração variada em função do estado nutricional, de amarelada, devido ao acúmulo de lipídios no interior das células hepáticas, a marrom avermelhada, devido a densa vascularização. Se localiza na região anterior da cavidade celomática dos peixes, na altura do estômago. É constituído por dois lobos, sendo o esquerdo maior, localizado próximo ao baço e o direito menor, próximo da vesícula biliar (VICENTINI *et al.* 2005; BOMBONATO *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2015). Sua função principal é metabolizar nutrientes e secundariamente armazenar carboidratos e lipídios, que são reservas utilizadas quando há situações de jejum ou baixa alimentação. Além disso, desempenha importante papel no sistema imune, apresentando células de defesa residentes como linfócitos natural killers (NK) e células de Kupffer (MORAES *et al.*, 2018). Portanto, é considerado um órgão chave, pois é um bioindicador, que impede e desintoxica os componentes prejudiciais que desejam penetrar no corpo (LEMES & BRACCINI, 2004).

O tecido hepático é repleto de ductos, sinusóides, capilares e veias, os quais se encontram entremeados entre os hepatócitos, facilitando trocas constantes entre o sistema circulatório e o tecido hepático. Pela artéria hepática o fígado recebe o oxigênio e pela veia porta hepática recebe metabólitos e nutrientes provenientes do

sistema digestório, os quais são processados no fígado e posteriormente distribuídos para os demais tecidos do organismo (RUST, 2002).

A estrutura dos hepatócitos de peixes possui núcleo arredondado, localizado centralmente. Entretanto, o fornecimento de dietas inadequadas pode afetar a morfologia e o arranjo celular das células hepáticas. Por exemplo, quando a energia da dieta excede a capacidade das células hepáticas de oxidar os ácidos graxos, a célula apresenta seu núcleo deslocado para a periferia, caracterizando um quadro de esteatose hepática (GAYÃO *et al.*, 2013; CABALLERO *et al.*, 2004). Portanto, a análise histológica do fígado de peixes pode auxiliar na compreensão de alterações neste órgão, seja patologias, relacionadas às doenças infecciosas, seja proporcionada por sobrecarga ou deficiência de nutrientes nas dietas administradas (Honorato *et al.* 2013).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PEIXES E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Juvenis masculinizados de tilápia-do-nilo provenientes de criadouro comercial (Piscicultura Sgarbi, Palotina, PR, Brasil) foram adaptadas as condições laboratoriais por sete dias. Após, foram pesados ( $3,01 \pm 0,1g$ ) e aleatoriamente estocados em caixas de polipropileno de 50L (15 indivíduos/caixa), perfazendo uma densidade equivalente a 300 peixes/m<sup>3</sup> (Haridas *et al.*, 2017). Os peixes foram mantidos em dois sistemas de recirculação de água. O primeiro consistiu em um sistema de recirculação em bioflocos (SRB), tipo macrocosmo-microcosmo com 20 tanques de 50L (microcosmo) conectados a duas caixas de 310L (macrocosmo) (FIGURA 1B – 1C). Neste sistema os peixes foram submetidos a diferentes taxas de alimentação (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% da biomassa/dia), em um delineamento inteiramente casualizado (n=4). O segundo foi um sistema de recirculação de água clara (SRA) (FIGURA 1A) composto por quatro tanques de 50L similares ao do sistema anterior, no qual os peixes foram alimentados na proporção de 10% da biomassa/dia. Todos os peixes foram alimentados com ração comercial (40% de PB) dividida igualmente em três refeições diárias (09:00h, 13:00h e 17:00h). Os dois sistemas foram instalados no mesmo ambiente *in door* (FIGURA 1A – 1B – 1C), dotados de aeração mecânica constante, submetidos ao mesmo regime de fotoperíodo (12h luz: 12h escuro). Durante todo o período experimental a temperatura (SRB:  $28,3 \pm 0,02$  e SRA:  $27,9 \pm 0,02$  °C), o oxigênio dissolvido (SRB:  $7,7 \pm 0,02$  e SRA:  $6,53 \pm 0,13$  mgL<sup>-1</sup>) e o pH (SRB:  $7,3 \pm 0,01$  e SRA:  $7,0 \pm 0,40$ ) foram monitorados diariamente às 9h00min e 17h00min com o auxílio de sonda multiparâmetros (Akso®, modelo Ak88, São Leopoldo, RS, Brasil).

FIGURA 1. Sistemas experimentais instalados no mesmo ambiente. A – Sistema de recirculação em água clara (SRA). B – Sistema de recirculação em bioflocos (SRB). C – Macrocosmo.

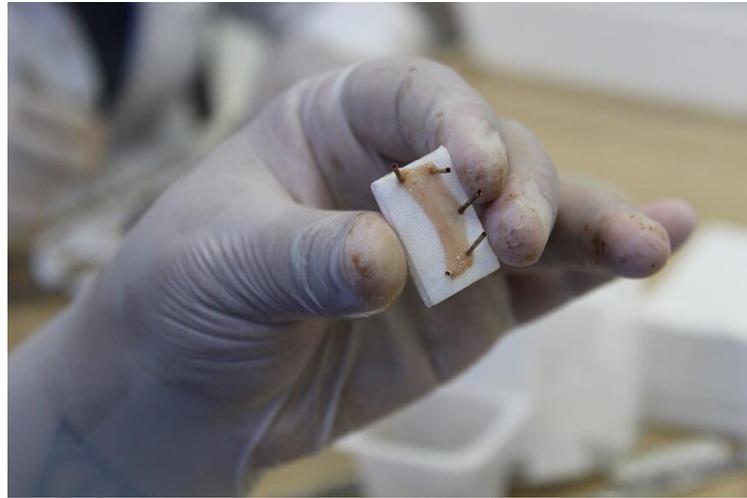


Fonte: Luciana Kelly Oliveira Silva.

### 3.2 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após 70 dias de experimento, três peixes foram coletados aleatoriamente de cada unidade experimental, eutanasiados por overdose de anestésico (benzocaína 100mg/L) e necropsiados. Posteriormente, foram amostrados o fígado e aproximadamente 5cm do intestino anterior. Para melhor visualização das vilosidades, o segmento do intestino foi aberto longitudinalmente e suas extremidades foram presas à uma base de isopor quadrada (FIGURA 2).

FIGURA 2. Segmento do intestino anterior da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) aberto longitudinalmente.



Fonte: Luciana Kelly Oliveira Silva.

As amostras foram fixadas em solução de Davidson durante 24 horas, conservadas em álcool etílico 70%, desidratadas em uma série crescente de soluções alcoólicas (70% a 100%), diafanizadas em xilol e impregnadas com parafina. Então foram obtidos cortes de 5 $\mu$ m de espessura com o auxílio de micrótomo manual (Leica®RM2155RT, Wetzlar, Alemanha), posteriormente, foram corados usando Hematoxilina e Eosina (HE) (FIGURA 3) e Ácido Periódico de Schiff (PAS).

FIGURA 3. Final do processo histoquímico da coloração das amostras por Hematoxilina e Eosina.



Fonte: Micheli Glesse.

A captura das imagens foi realizada através de câmera digital (Zeiss®, AxioCam ERe5s, Oberkochen, Alemanha) acoplada ao microscópio óptico (Zeiss®, Oberkochen, Alemanha).

### 3.3 PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS AVALIADOS

#### 3.3.1 Determinação da densidade de volume da esteatose hepática

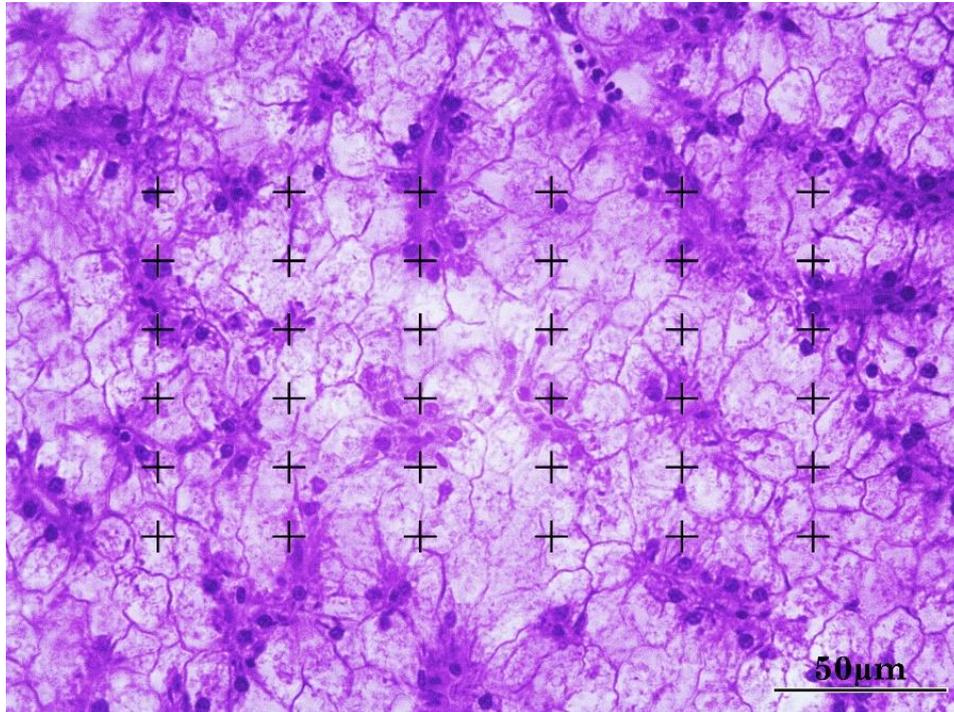
Em cada corte foram microfotografados três campos aleatórios e não consecutivos, totalizando 36 imagens por tratamento. Para avaliar a esteatose hepática foi usada a técnica estereológica por “*contagem de pontos*” (CP). Foi preparado um painel contendo 36 cruces (distância entre as cruces: 28µm na horizontal e 11µm na vertical), esse painel de cruces foi sobreposto (FIGURA 4) em cada fotomicrografia (PhotoScape v3.7). Foram quantificados todos os vacúolos que ocupavam o citoplasma, deslocavam o núcleo e que tocavam nas cruces, para determinar a densidade do volume de esteatose hepática  $Vv[\text{esteatose}]$  (MANDARIN-DE-LACERDA, 2003), utilizando a seguinte equação:

$$Vv[\text{esteatose, \%}] = \frac{Pp[\text{esteatose}]}{PT} \times 100$$

$Pp[\text{esteatose}]$ : pontos que tocam as vesículas de gordura.

$PT$ : número total de pontos (36 pontos).

FIGURA 4. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-nilo alimentada com 10% de biomassa e cultivada em SRB, com o sistema teste de 36 pontos sobreposto. Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra de escala de 50  $\mu\text{m}$ .



Fonte: Micheli Glesse.

### 3.3.2 Análise histomorfométrica e densidade de vilosidades intestinais

Em cada corte foram microfotografados dois campos aleatórios e não consecutivos, totalizando 24 imagens por tratamento. Através do programa Analisador de Imagem (Image-Pro® Plus versão 4.5.0.29) foram medidas a altura da vilosidade, da sua base ao ápice e a largura da vilosidade na região mediana, ambos em linha reta (FIGURA 5).

FIGURA 5. Fotomicrografia das vilosidades intestinais. Altura (A) - Largura (L). Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina.



Fonte: Micheli Glesse.

Foram quantificadas a densidade dos vilos, de acordo com o campo de captura no segmento de 50 $\mu$ m, em 40x. Foram ponderadas as vilosidades de seis micrografias por tanque, totalizando 24 por tratamento (SCHWARZ *et al.*, 2011).

### 3.3.3 Número de células caliciformes

De cada corte foram fotomicrografia dois campos aleatórios e não consecutivos. Por meio do programa Analisador de Imagem (Image-Pro® Plus versão 4.5.0.29) foi realizada a contagem as células caliciformes de dois vilos por campo, sendo 12 vilos por caixa em um total de 48 vilos por tratamento.

## 3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram avaliados quanto a distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e a homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett). Após atendidos os pressupostos, procedeu-se a análise de variância (*one way* - ANOVA) e, quando

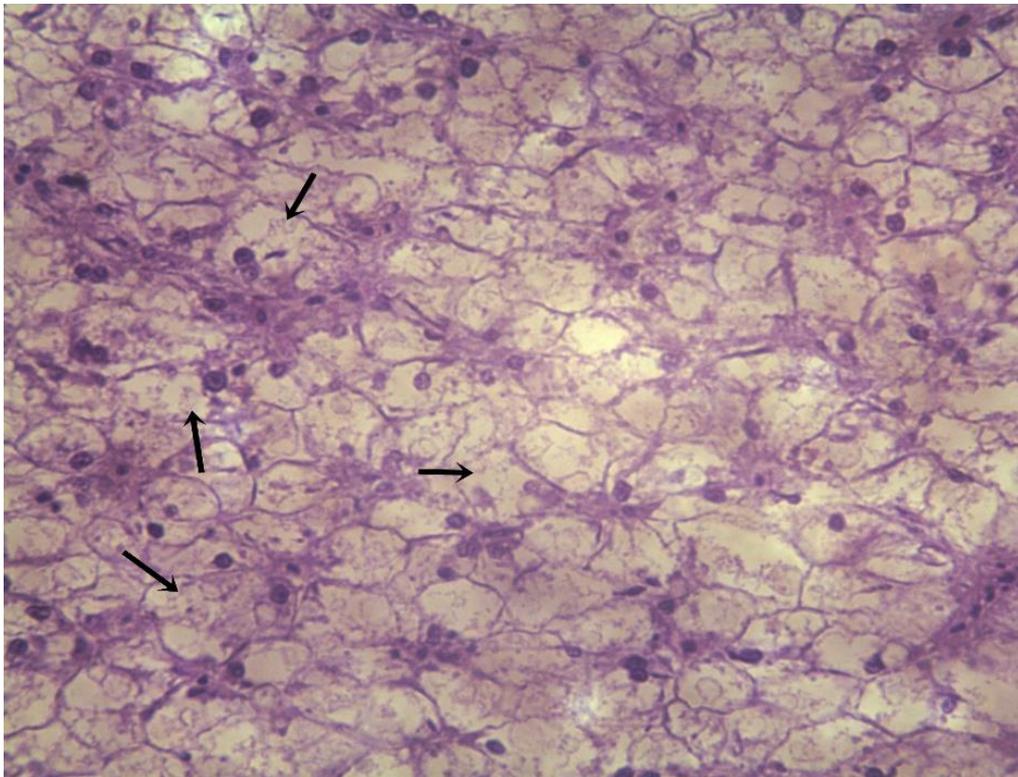
significativa, aplicou-se o teste de Tukey para comparação de médias. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software *Statistical Analysis System* – SAS, versão 9.1, utilizando-se o nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 DENSIDADE DO VOLUME DA ESTEATOSE HEPÁTICA

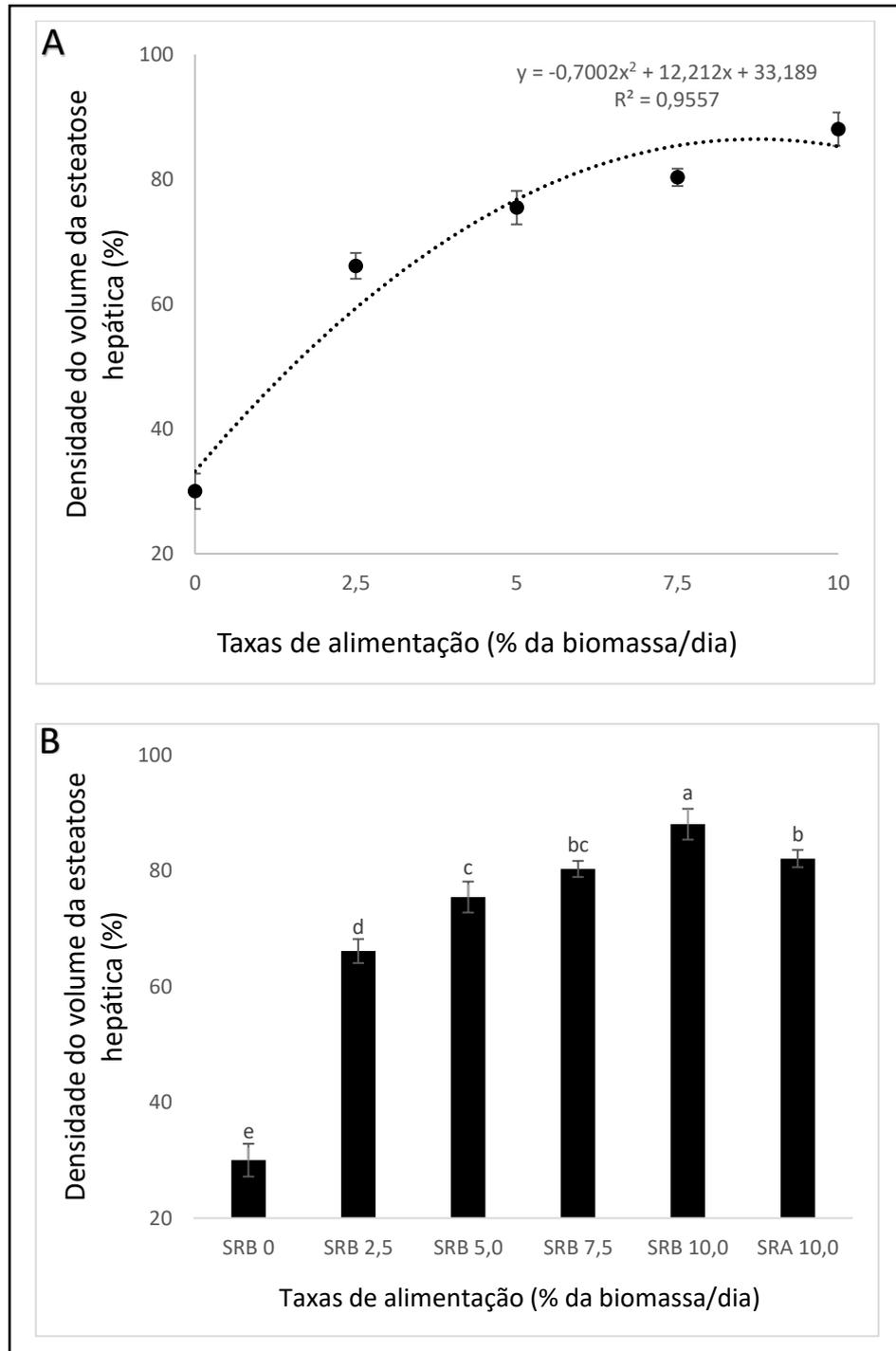
Foram observadas mudanças significativas na morfologia dos hepatócitos, com aumento do espaço gorduroso e deslocamento do núcleo para a periferia celular (FIGURA 6). Os peixes em SRB apresentaram aumento do volume da esteatose hepática proporcional ao incremento das taxas de alimentação até 8,6% da biomassa/dia (FIGURA 7-A). As tilápias em SRB 10 apresentaram maior esteatose ( $P < 0,05$ ) em relação aos peixes mantidos em SRA (FIGURA 7-B).

FIGURA 6. Fotomicrografia do fígado da tilápia-do-nylo suplementada com 10% da biomassa cultivada no SRB. Setas: aumento de degeneração gordurosa nos hepatócitos. Coloração Hematoxilina-Eosina.



Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 7. Efeito de taxas de alimentação e densidade do volume da esteatose hepática (DVEH) de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e densidade do volume da esteatose hepática (DVEH) de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da DVEH de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Micheli Glesse.

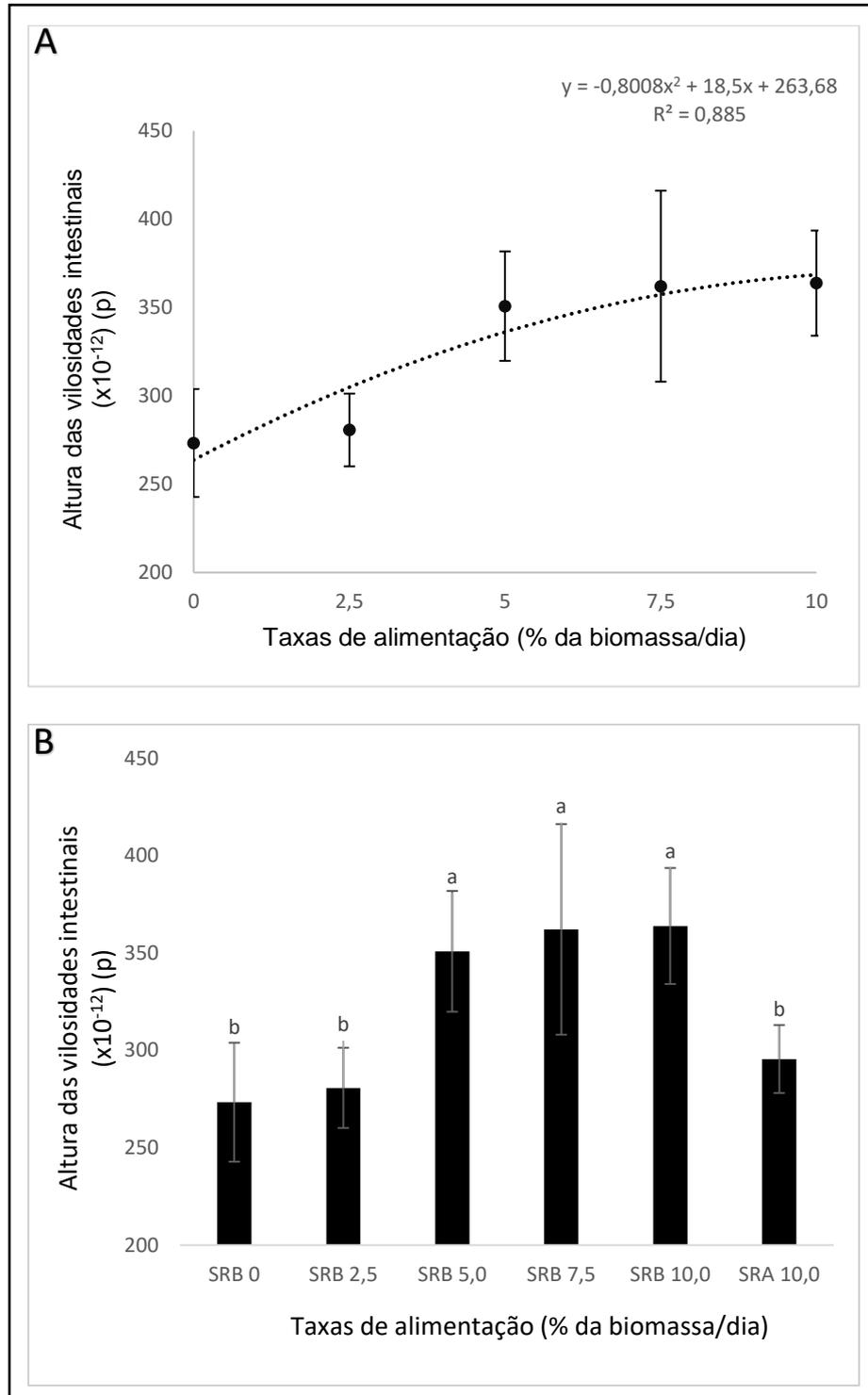
## 4.2 HISTOMORFOMETRIA DAS VILOSIDADES INTESTINAIS

A altura das vilosidades dos peixes diferiu conforme as diferentes taxas de alimentação (FIGURA 8-A). Os peixes cultivados em SRA10%, SRB0% e SRB 2,5% apresentaram altura das vilosidades similar ( $P>0,05$ ). Entretanto, nos peixes cultivados em SRB a altura aumentou ( $p<0,05$ ) nos peixes alimentados a partir de 5%, e maiores taxas de alimentação não proporcionaram aumento ( $P>0,05$ ) na altura dos vilos (FIGURA 8-B). O cultivo das tilápias em SRB provocou uma maior altura ( $P<0,05$ ) em relação aos peixes mantidos em SRA (FIGURA 8-B).

A largura das vilosidades intestinais das tilápias mantidas em SRB aumentou até uma taxa de alimentação estimada em 5,7% da biomassa/dia, decrescendo a partir deste ponto (FIGURA 9-A). Os peixes mantidos em SRA10, SRB0 e SRB10 apresentaram largura similar ( $P>0,05$ ), embora menores ( $P<0,05$ ) que as registradas para todos os outros tratamentos (FIGURA 9-B). A relação altura/largura foi maior nos peixes alimentados com 10% da biomassa/dia cultivados em SRB (FIGURA 10-A), diferindo estatisticamente dos peixes cultivados em SRA (FIGURA 10-B).

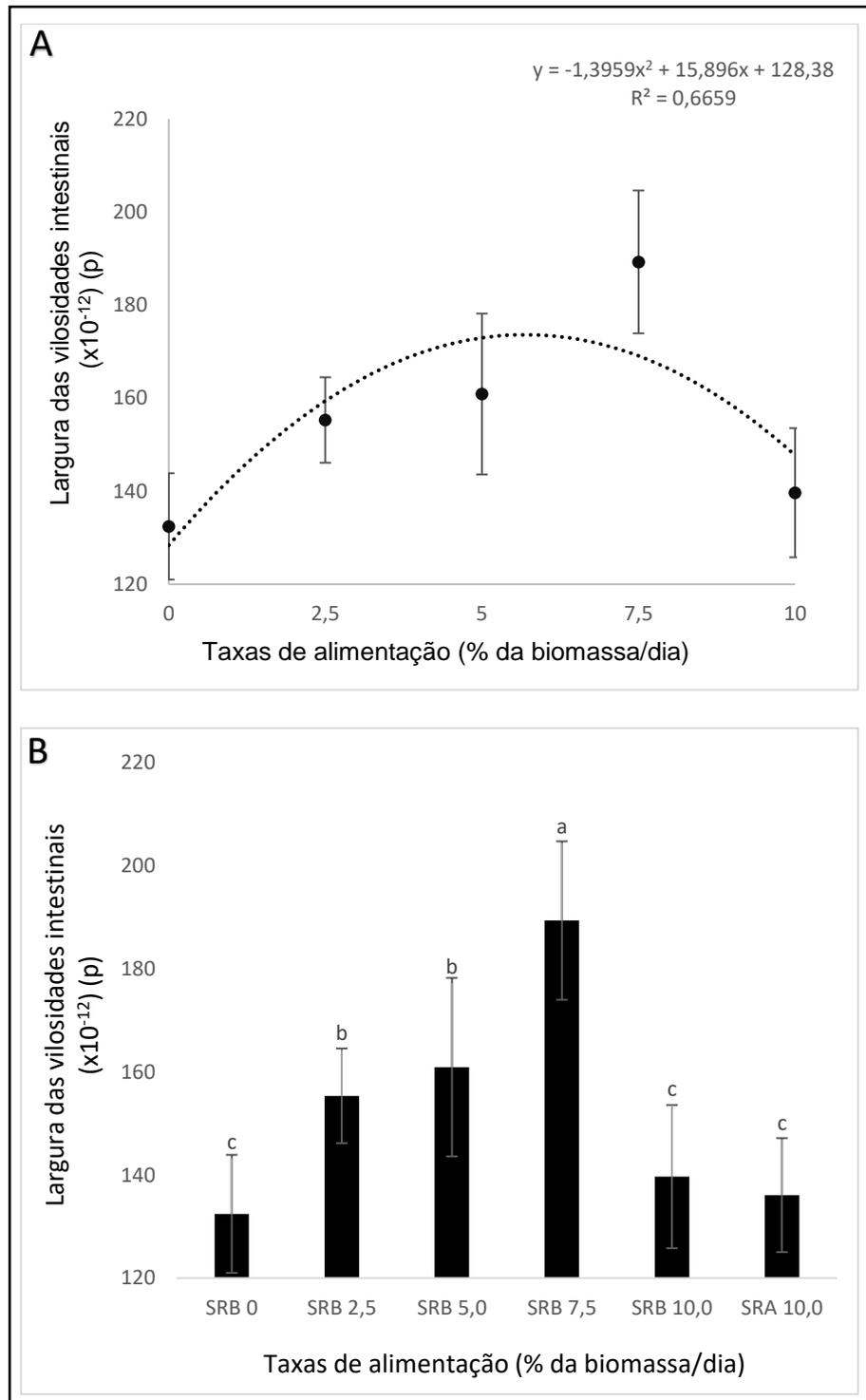
A densidade das vilosidades aumentou com o incremento das taxas de alimentação em SRB (FIGURA 11-A e 12), embora nenhuma diferença significativa tenha sido registrada a partir de 7,5% (FIGURA 11-B). Os peixes em mantidos em SRA apresentaram menor ( $P<0,05$ ) densidade de vilos (FIGURA 11-A) do que aqueles mantidos em SRB10, embora tenham apresentado densidade similar ( $P>0,05$ ) a SRB0, SRB2,5 e SRB5.

FIGURA 8. Efeito de taxas de alimentação e altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da altura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



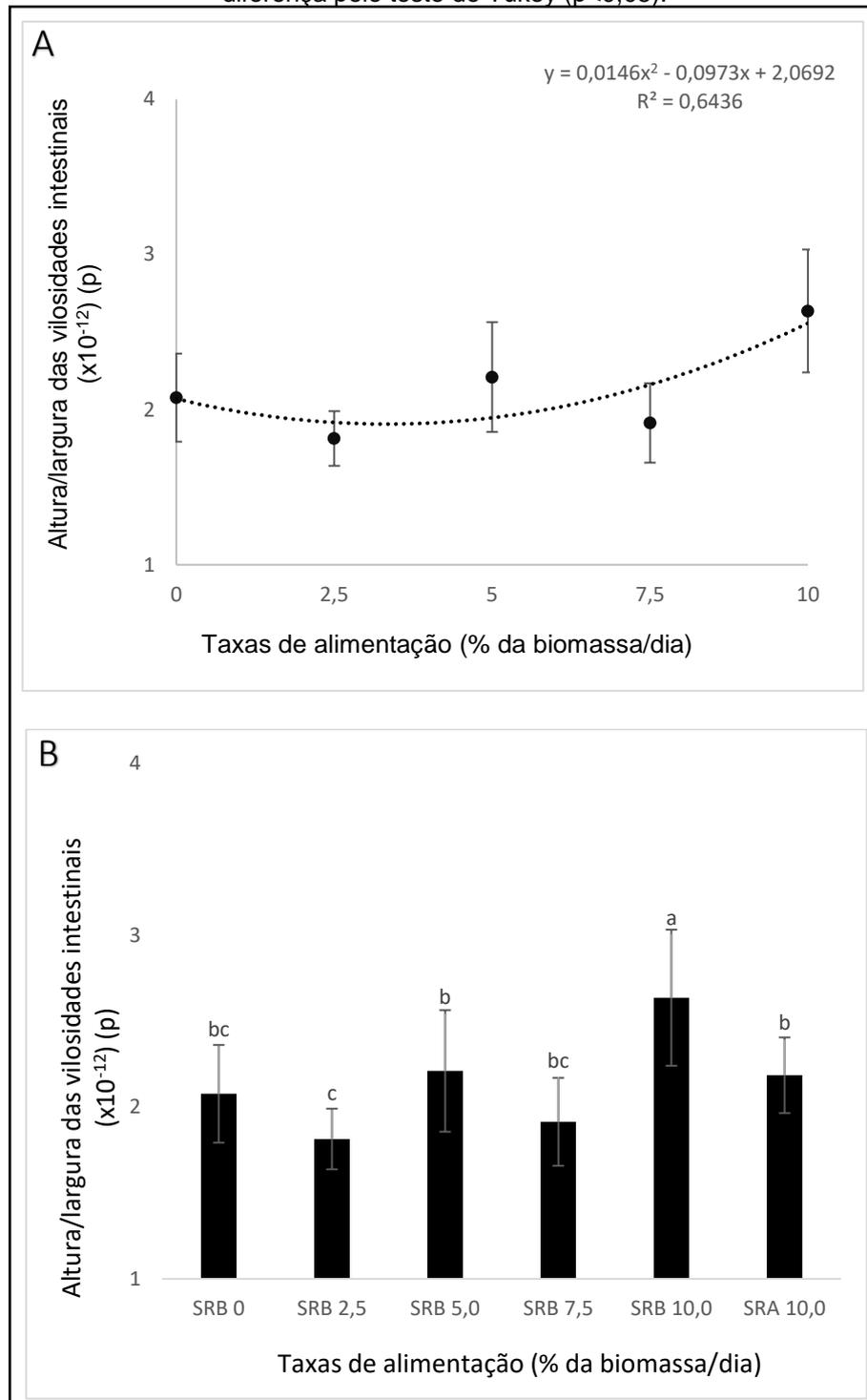
Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 9. Efeito de taxas de alimentação e largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



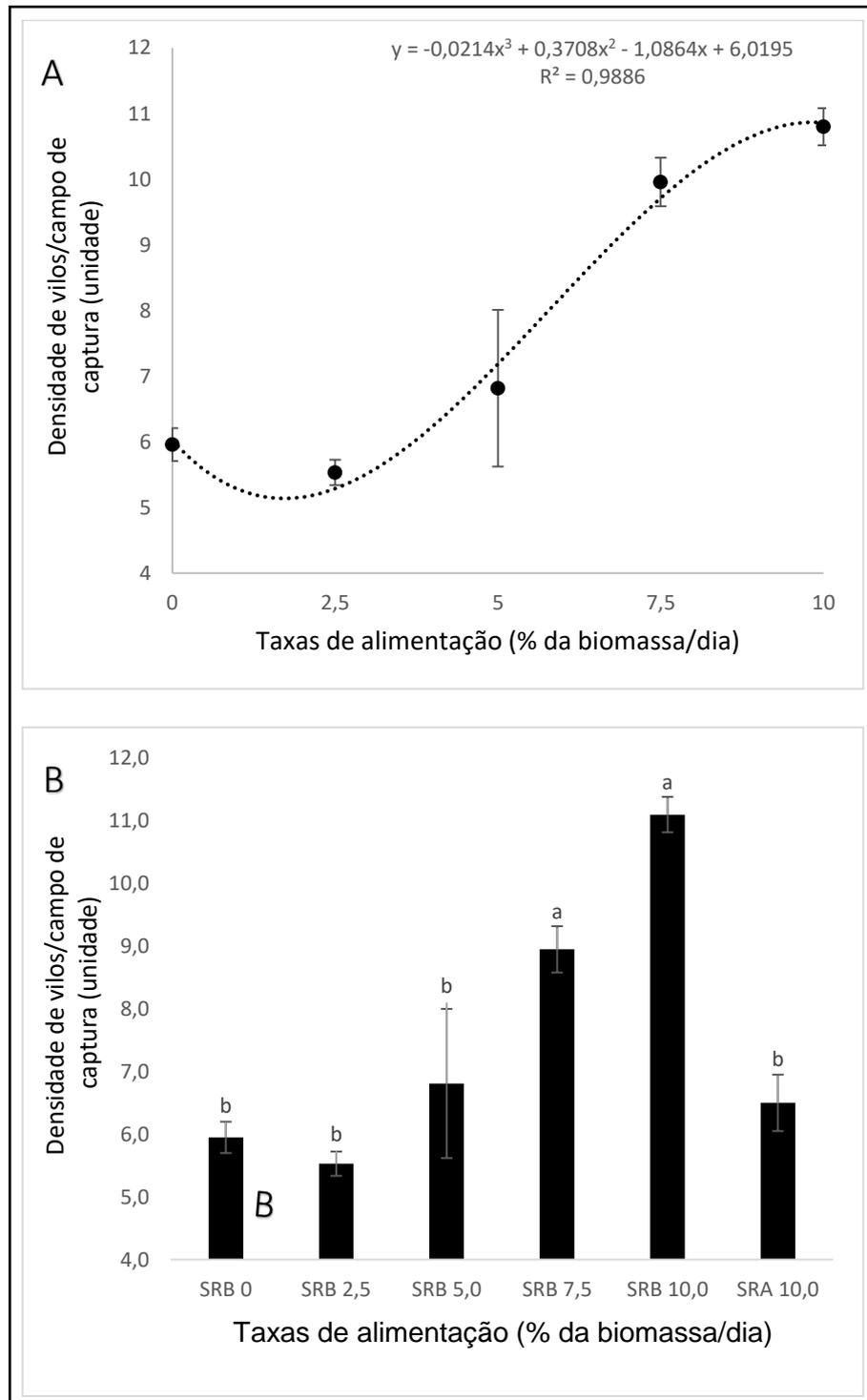
Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 10. Efeito de taxas de alimentação e relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nylo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nylo cultivados em SRB; B – Comparação da relação altura/largura das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nylo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



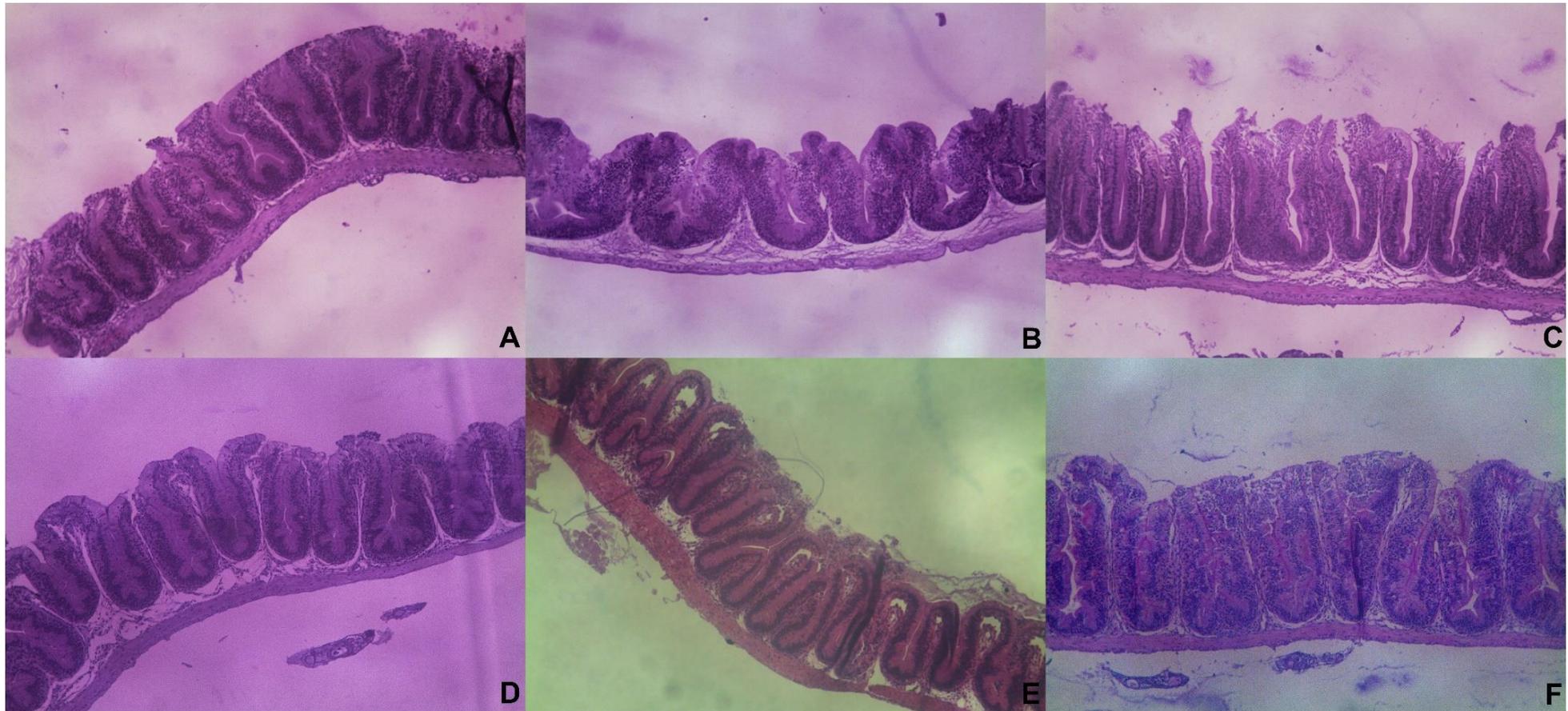
Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 11. Efeito de taxas de alimentação e densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação da densidade de vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 12. Fotomicrografias das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia-do-nylo de acordo com o tratamento. **A** – SRB0; **B** – SRB2,5; **C** – SRB5,0; **D** – SRB 7,5; **E** – SRB 10,0; **F** – SRA 10. Aumento de 40x. Coloração Hematoxilina-Eosina.

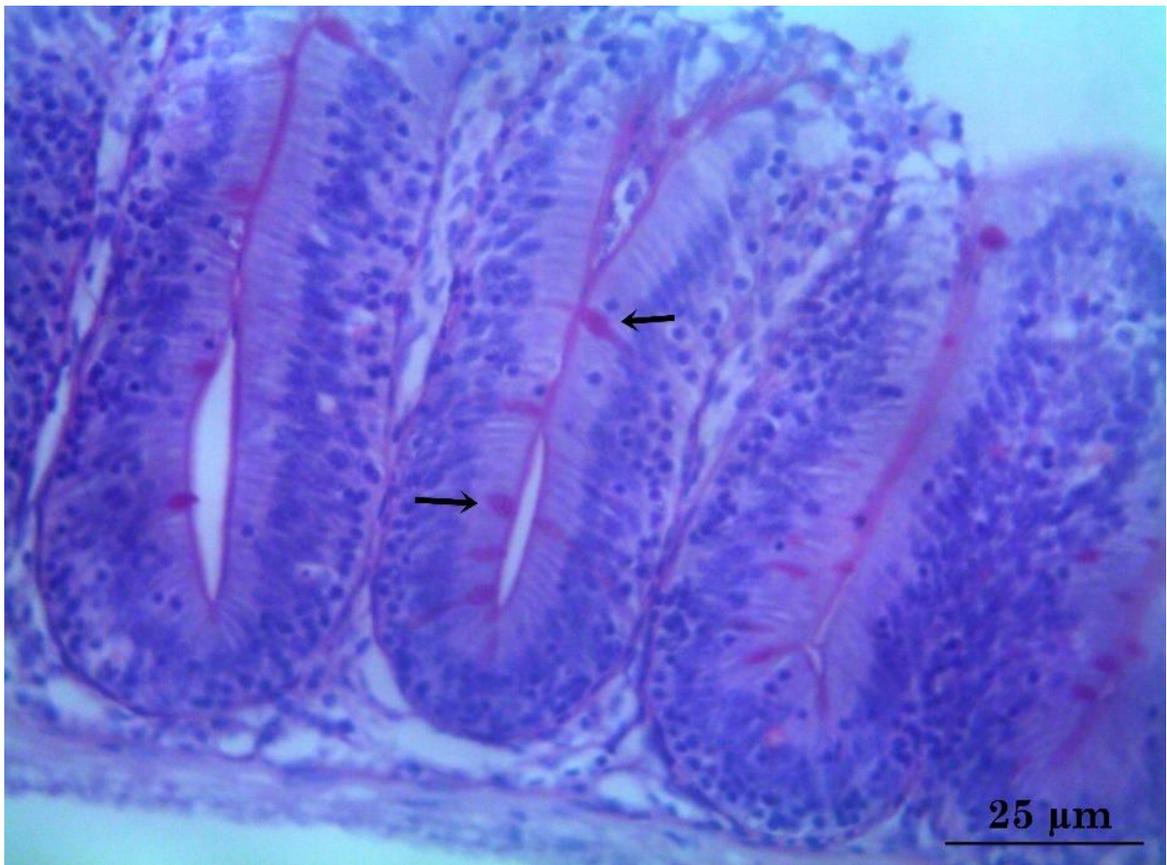


Fonte: Micheli Glesse.

### 4.3 NÚMERO DE CÉLULAS CALICIFORMES

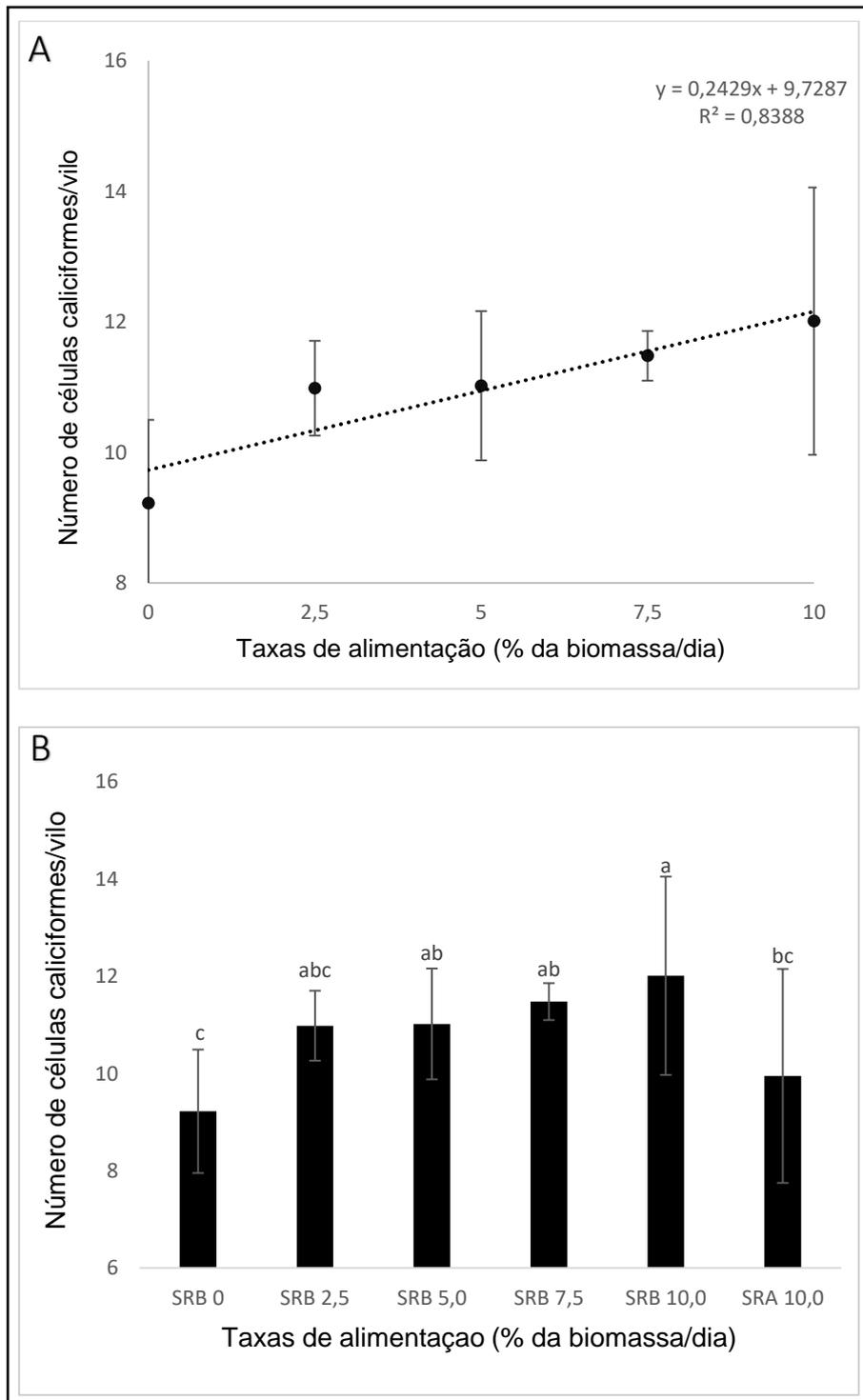
O número de células caliciformes apresentou aumento linear ( $P < 0,05$ ) em função das taxas de alimentação a que as tilápias foram submetidas em SRB (FIGURA 14-A). Entretanto, pelo teste de Tukey este aumento não foi significativo a partir do fornecimento de 5% da biomassa/dia (FIGURA 14-B). O cultivo das tilápias em SRB 10 resultou maior número de células caliciformes ( $P < 0,05$ ) em relação aos peixes mantidos em SRA (FIGURA 14-B).

FIGURA 13. Fotomicrografia das vilosidades do intestino anterior com destaque as células caliciformes. Aumento de 20x. Coloração Ácido Periódico de Schiff. Seta preta: células caliciformes. Barra de escala de 25  $\mu\text{m}$ .



Fonte: Micheli Glesse.

FIGURA 14. Efeito de taxas de alimentação e número de células calciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em sistemas de recirculação com bioflocos (SRB) e água clara (SRA). A – Relação entre taxa de alimentação e o número de células calciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB; B – Comparação do número de células calciformes por vilosidade intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo cultivados em SRB e SRA; Letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Micheli Glesse.

## 5. DISCUSSÃO

O fígado desempenha papel-chave na homeostase da glicose e lipídios dos animais. Quando os peixes se encontram adequadamente alimentados, os hepatócitos armazenam quantidades significativas de glicogênio e processam grande quantidade de lipídios (POSTIC, DENTIN & GIRARD, 2004; SANTOS *et al.*, 2004). Os lipídios são importante fonte de energia para os peixes. Porém, quando o conteúdo energético na dieta está acima do nível exigido, ocorre deposição de gordura na cavidade peritoneal, fígado e outros tecidos. No fígado, o acúmulo excessivo de lipídios resulta no desenvolvimento da doença denominada esteatose hepática (KUMAR *et al.*, 2010; NRC, 2011).

O presente estudo demonstrou que o fígado dos peixes submetidos ao tratamento BFT 10 apresentou excessiva deposição de lipídios. Resultados similares foram registrados no trabalho de Honorato *et al.* (2014), Xie *et al.* (2017) e Liu, Wen & Luo (2018), onde ambos cultivaram tilápia-do-nilo alimentadas com diferentes concentrações energéticas. Parte deste resultado é explicado pelo fato de que normalmente é encontrado no parênquima hepático um discreto grau de vacuolização, além disso, a formulação de dieta inadequada e a exposição a agentes estressores podem ser a causa pelo acúmulo de lipídios nos hepatócitos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011; BOLLA, NICOLAISEN & AMIN, 2011).

Outro estudo realizado com carpas (*Cyprinus carpio L.*) cultivadas no sistema BFT e nutridos com 2,6% do peso corporal provocou aumento gradativo de conteúdo lipídico no citoplasma dos hepatócitos, acarretando maior diâmetro do hepatócito e núcleo deslocado para a periferia (NAJDEGERAMI, BAKHSHI & LAKANI, 2016). Ressaltando que, quando o conteúdo energético é dado em excesso não traz benefícios no crescimento, representando assim um desperdício de energia, além de induzir anormalidades metabólicas e fisiológicas dos peixes (RUEDA-JASSO *et al.* 2004). A utilização do bioflocos como alimento também contribuiu com este acúmulo de lipídios hepáticos no presente estudo, devido ao aporte extra de energia proveniente dele, uma vez que a tilápia é uma espécie filtradora. Este aporte pode ter ocasionado um desbalanceamento dos nutrientes dietéticos, levando a um maior acúmulo de gordura no fígado.

A habilidade dos peixes em processar os alimentos é fundamental ao seu desenvolvimento. O intestino é um órgão envolvido em importantes funções fisiológicas, sendo o principal local de digestão dos alimentos e absorção de nutrientes (CARVALHO *et al.*, 2011). O consumo de nutrientes reflete no desenvolvimento intestinal, e conseqüentemente no número e tamanho das vilosidades intestinais. O aumento das vilosidades proporciona maior área de contato dos nutrientes com as células absortivas (enterócitos), permitindo maior eficiência no processo absortivo pelas tilápias (ADEOYE *et al.*, 2016; Mello *et al.* 2013).

A proteína é a principal responsável pela formação dos tecidos e órgãos, e nos peixes é também uma das fontes preferenciais de energia. No presente estudo, a medida que a taxa de alimentação foi aumentada, foi disponibilizado um maior aporte proteico diário para os peixes. Desta maneira, os peixes cultivados no sistema BFT10% ingeriram diariamente uma maior quantidade de proteína, que pode ter sido disponibilizada para o desenvolvimento das vilosidades intestinais. Resultados similares foram encontrados nos estudos de Özel *et al.* (2018) com juvenis de truta do Mar Negro (*Salmo labrax* Pallas, 1814), de Gao *et al.* (2014) com juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e de Rodrigues *et al.* (2018) com camarões (*Litopenaeus vannamei*) cultivados em sistema BFT, nos quais a elevação do conteúdo proteico das dietas resultou em aumento da altura das vilosidades intestinais nestas espécies. Assim, comprova-se que a morfologia intestinal é influenciada por taxas proteicas em diferentes espécies (Raskovic *et al.*, 2011).

A função das células caliciformes é a produção de muco para proteger e lubrificar o revestimento intestinal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008). No presente estudo, as maiores quantidades de células caliciformes foram encontradas no intestino dos peixes cultivados no sistema BFT com a maior porcentagem de alimentação (BFT 10%). Entretanto, Bakhshi *et al.* (2017) não registraram diferença na quantidade de células caliciformes em carpas comuns (*Cyprinus carpio* L.) cultivadas em sistemas com e sem BFT. Uma possível explicação para o resultado encontrado neste estudo seria a tentativa de proteger a mucosa dos agentes patogênicos (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004), e a necessidade de lubrificar o trato gastrointestinal para aumentar a viscosidade do bolo alimentar (FACCIOLI, 2015) devido a quantidade de alimento ofertado no BFT 10%.

Silva *et al.* (2015) relataram que tilápias-do-nilo alimentadas com probióticos apresentaram maior quantidade de células caliciformes. Probióticos são definidos como um aditivo alimentar microbiano vivo que tem efeito benéfico sobre o hospedeiro, modificando sua flora microbiana, proporcionando uma melhor utilização do alimento (VERSCHUERE *et al.*, 2000). A tecnologia de bioflocos trabalha com um rico ambiente microbiano, que podem ter ação imunoestimuladora benéfica a saúde dos peixes (AHMAD *et al.*, 2017). Portanto, estudos adicionais são necessários para avaliar um possível efeito probiótico do bioflocos.

## **6. CONCLUSÃO**

A criação de juvenis de tilápia-do-nilo em sistema de recirculação com bioflocos deve ser realizada com uma taxa de alimentação mínima entre 5,0 e 6,0% da BM/d para garantir o desenvolvimento morfológico adequado do intestino, número de células caliciformes suficientes e o não acarretamento de deposição excessiva de lipídios no fígado, além de não gerar altos custos na produção.

## REFERÊNCIAS

ADEOYE, A. A. *et al.* Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, Reino Unido, p.133-143, 2016.

AHMAD, I. *et al.* Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. **Aquaculture**, India, p.1215-1226, 2017.

AL-YOUSEIF, M.H; EL-SHAHAWI; AL-GHAIS, S.M. Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. **Science Total Environment**, Michigan, p.87-94, 2000.

ANDRADE, C. L. *et al.* Nutrição e alimentação de Tilápias do Nilo. **Nutritime Viçosa**, v. 12, n. 6, p.4464-4469, 2015.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, Israel, v. 264, n. 1-4, p.140-147, abr. 2007.

AVNIMELECH, Y.; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. **Aquaculture**, Israel, p.163-168, 2009.

AVNIMELECH, Y. Tilapia Production Using Biofloc Technology: Saving Water, Waste Recycling Improves Economics. **Global Aquaculture Advocate**, Israel, p.66-69, 2011.

BAKHSHI, F. *et al.* Growth performance, haematology, antioxidant status, immune response and histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed biofloc grown on different carbon sources. **Aquaculture**, Iran, p.393-403, 2017.

BALDISSEROTTO, B. *et al.*, **Farmacologia aplicada a aquicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2017.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.

BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (Org.). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: Funep, 2014. 336 p.

BERNET, D. *et al.* Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal Of Fish Diseases**, Switzerland, p.25-34, 1999.

BOLLA, S.; NICOLAISEN, O.; AMIN, A. Liver alterations induced by long term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 312, n. 1/4, p. 117–125, Feb. 2011.

BOMBONATO, M. T. S. *et al.* Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p.81-85, 2007.

CABALLERO, M. J. *et al.* Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal Of Fish Diseases**, p.531-541, 2004.

CAMARGO, S. G. O.; POUEY, J. L. O. F. Aquicultura - um mercado em expansão: Aquaculture - an expanding market. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p.393-396, 2005.

CARVALHO, J. V. *et al.* Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo: The performance and intestinal morphometry of tilapia fingerlings fed mannanoligosaccharides and "*Bacillus subtilis*". **Revista Brasileira de Produção e Saúde Animal**, Salvador, v. 12, n. 1, p.176-187, 2011.

CAVALCANTE, D. H. *et al.* Integration between bioflocs and periphyton in Nile tilapia culture tanks. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 39, p.601-607, 2017.

COLPINI, L. M. S. *et al.* Valor nutricional do filé e carcaça de tilápias do nilo alimentadas com rações contendo valores diversos de proteína e energia digestível. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, p.41-52, 2017.

COSTA, G. M. *et al.* Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Alta Floresta, p.947-950, 2012.

COSTA, G. M. *et al.* Histomorfologia do fígado de bicuda, *Boulengerella cuvieri* (Agassiz, 1829) (*Teleostei, Ctenoluciidae*). **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, v. 13, n. 2, p.45-49, 2015.

CRUZ, T. M. P. Epitélio intestinal de juvenis de pacu (*Piaractus Mesopotamicus*, Holmberg 1887) e dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier 1816) alimentados com dieta contendo colostro bovino liofilizado. Piracicaba, 2013.

CYRINO, J. E. P. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tecart, 533 p, 2004.

DA SILVA, M. A. *et al.* Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a biofloc system. **Aquaculture**, p. 2693–2703, 2018.

EL-SAYED, A. M. **Tilapia Culture**. Egito: Cabi Publishing, 293 p. 2006.

EMBRAPA. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília, 2013. 440 p.

EMERENCIANO, M. *et al.* Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. **Aquaculture**, México, p.75-85, 2011.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZO, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. **Biomass Now - Cultivation And Utilization**, p.301-328, 30 abr. 2013.

FACCIOLI, C. K. Ultraestrutura e Citoquímica do Tubo Digestivo de *Hemisorubim platyrhynchos* (*Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae*). Tese de Doutorado, São José do Rio Preto, 2015.

FALCON, D. R.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed Fe vitamin C and lipid supplemented diets and submitted to low-temperature stress. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.38, p.287-295, 2007.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**: Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 2016. 224 p.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**: contributing to food security and nutrition for all. Rome, 2016, 200 p.

FERREIRA, C. M. *et al.* Características histomorfométricas do intestino de juvenis de tambaqui após uso de probiótico na dieta e durante transporte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Cuiabá, p.1258-1264, 2014.

FIUZA, T. S. *et al.* Análise tecidual e celular das brânquias de *Oreochromis niloticus* L. tratadas com extrato etanólico bruto e frações das folhas da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p.389-395, 2011.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do Lambarí *astyanax jacuhiensis* (cope, 1894) (*Teleostei, characidae*) sob influência de efluentes petroquímicos. **Biociências**, Porto Alegre, v. 15, n. 2, p.166-172, jul. 2007.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. 5º simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição, Balneário Camboriú, p.6-28, 2004.

FURUYA, W. M. (Ed.). **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010. 100 p.

FURUYA, W. M. Nutrição de tilápias no Brasil. **Revista Varia Scientia Agrárias**, v. 3, n. 1, p.133-150, 2013.

FURUYA, W. M. Redução do impacto ambiental por meio da ração. **Maricultura e Pesca**. Belo Horizonte, 2007.

GAO, Y. *et al.* Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture**, China, p.113-119, 2014.

GAYÃO, A. L. B. A. *et al.* Histologia hepática e produção em tanques-rede de tilápia-do-nilo masculinizada hormonalmente ou não masculinizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p.991-997, 2013.

HARIDAS, H. *et al.* Enhanced growth and immuno-physiological response of Genetically Improved Farmed Tilapia in indoor biofloc units at different stocking densities. **Aquaculture**, v. 48, n. 8, p. 4346–4355, 2017.

HONORATO, C. A. *et al.* Histologia do fígado de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo silagem biológica de pescado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Dourados, p.64-68, 2014.

HONORATO, C. A. *et al.* Histologia do intestino de tilápia do nilo alimentados com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Nucleus Animalium**, Dourados, p.103-112, 2013.

HONORATO, C. A. *et al.* Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe: Histology and histochemical the medium intestine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets with fish silage. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, São Paulo, p.281-288, 2011.

HUED, A. C.; OBERHOFER, S.; BISTONI, M. L. Á. Exposure to a Commercial Glyphosate Formulation (Roundup) Alters Normal Gill and Liver Histology and Affects Male Sexual Activity of *Jenynsia multidentata* (Anablepidae, Cyprinodontiformes). **Arch Environ Contam Toxicol**, Argentina, p.107-117, 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2005. 302p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2008. 524p.

KARAMI, A. *et al.* Acute phenanthrene toxicity to juvenile diploid and triploid African catfish (*Clarias gariepinus*): Molecular, biochemical, and histopathological alterations. **Environmental Pollution**, Malaysia, p.155-165, 2016.

KIRCHNER, R. M. *et al.* Análise da produção e comercialização do pescado no Brasil. **Revista Agro@ambiente**, Boa Vista, p.168-177, 2016.

KUBITZA, F. Tilápia Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial. 2 Ed. rev. Jundiaí: **Acqua Supre**. Aquicultura, p. 316. 2011.

KUMAR, V. *et al.* **Patologia**: Bases Patológicas das Doenças. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda. 2010.

LEMES, A. S.; BRACCINI, M. C. Descrição e análise histológica das glândulas anexas do trato digestório de *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794), (*Teleostei, erythrinidae*). **Biodiversidade Pampeana**, Uruguaiana, p.33-41, 2004.

LIMA, E. C. R. *et al.* Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Recife, v.16, p.948-957, 2015.

LIMA, F. B. *et al.* Morfologia das brânquias de *Steindachnerina brevipinna* (Eigenmann & Eigenmann, 1889) (*Characiformes, Curimatidae*). **Biotemas**, Uruguaiana, p.87-92, 2009.

LI, M. *et al.* Metabolic response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute and chronic hypoxia stress. **Aquaculture**, China, p.187-195, 2018.

LINS, J. A. P. N. *et al.* Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático: Use of fish as biomarkers for monitoring aquatic environment. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, p.469-484, 2010.

LIU W., WEN H. & LUO Z. Effect of dietary protein levels and feeding rates on the growth and health status of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) **Aquaculture**, China, p.153-167, 2018.

LONG, L. *et al.* Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, China, p.135-141, 2015.

LUI, T. A. *et al.* Índice de acidez do óleo de peixe na nutrição de alevinos de tilápia: Fish oil acidity index on nutrition of tilapia fingerlings. **Revista Agrarian**, Dourados, p.174-180, 2018.

LUO, G. *et al.* Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. **Aquaculture**, China, p.1-7, 2014.

LUPI, C. *et al.* Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe**, Bebedouro, n. 3, p.1-6, 2007.

MAGAÑA-GALLEGOS, E. *et al.* Nutritional Contribution of Biofloc within the Diet of Growout and Broodstock of *Litopenaeus vannamei*, Determined by Stable Isotopes and Fatty Acids. **Journal Of The World Aquaculture Society**, México, v. 49, n. 5, p.919-932, 2018.

MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 75, n. 4, p. 469–486, 2003.

MEDEIROS, F. (Coord. geral). **Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2018**: Veículo oficial da Associação Brasileira da Piscicultura. 2018.

MEDEIROS, F. (Coord. geral). **Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2019**: Veículo oficial da Associação Brasileira da Piscicultura. 2019.

MELLO, H. *et al.* Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Jaboticabal, p.724-730, 2013.

MINHOS, G.; HONORATO, C. A. Manejo alimentar antes do período de inverno para o tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) cultivado em viveiros escavados. **Revista Eletrônica Nutritime**, Dourados, p.3760-3769, 2014.

MJOUN, K.; ROSENTRATER, K. A.; BROWN, M. L. TILAPIA: Environmental Biology and Nutritional Requirements. **South Dakota Cooperative Extension Service**, Papa, p.1-5, 2010.

MONTEIRO, S.M.; FONTAINHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. Caracterização morfológica e ultra estrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, p.13-36, 2004.

MORAES, A. C. *et al.* Esteatose hepática altera acúmulo celular em tilápias do Nilo durante aerocistite infecciosa. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Jaboticabal, p.1570-1576, 2018.

NAJDEGERAMI, E. H.; BAKHSHI, F.; LAKANI, F. B. Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. **Fish Physiol Biochem**, Iran, p.457-465, 2016.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington: National Academy Press, 2011. 376 p.

NAYLOR, R. L. *et al.* Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v. 405, n. 6790, p. 1017–24, 2000.

NUNES, J. O. *et al.* Evaluation of the probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) as additive to improve performance in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.11, p.2374-2378, 2012.

OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: EMBRAPA. **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**. Macapá, Cap. 8. p. 226-247. 2009.

OLIVEIRA, R. C. de. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia**, v. 2, n. 1, p.71-89, 2009.

ÖZEL, O. T. *et al.* Evaluation of growth performance and intestine villi morphology of black sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) fed with different protein levels containing diets. **Ege Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences**, Turquia, p.125-130, 2018.

PÉREZ-FUENTES, J. A. *et al.* Variation of the bacterial composition of biofloc and the intestine of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivated using biofloc technology, supplied different feed rations. **Aquaculture**, México, p.3658-3668, 2018.

POSTIC, C.; DENTIN, R.; GIRARD, J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. **Diabetes Metab**, France, p.398-408, 2004.

RASKOVIC, B. S. *et al.* Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **Journal of Agricultural Sciences**, p.87-100, 2011.

REZENDE, K. F. O. *et al.* Histopatologia das brânquias de Tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*, provenientes da represa Billings, área de proteção ambiental Bororé-Colônia. **Atas de Saúde Ambiental - ASA**, São Paulo, v. 1, n. 1, p.57-68, 2013.

ROCHA, A. F. *et al.* Avaliação da formação de bioflocos na criação de juvenis de tainha mugil cf. hospes sem renovação de água. **Atlântica**, v. 34, n. 1, p.63-74, 2012.

RODRIGUES, M. S. *et al.* Mannoprotein dietary supplementation for Pacific white shrimp raised in biofloc systems. **Aquaculture**, Santa Catarina, p.90-95, 2018.

ROMÃO, S. *et al.* Blood Parameter Analysis and Morphological Alterations as Biomarkers on the Health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, Curitiba, v. 49, n. 3, p.441-448, 2006.

ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2003.

RUEDA-JASSO, R. *et al.*, Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. **Aquaculture**, 231, 417–433, 2004.

RUST, M. B. Nutritional Physiology. **Fish Nutrition**. Academic Press, San Diego, CA, USA, p. 367-505, 2002.

SANTOS, A. A. *et al.* Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, p.141-145, 2004.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. **Texto Para Discussão**, Rio de Janeiro, 2017.

SCHVEITZER, R. *et al.* Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**, p.93-103, 2013.

SCHWARZ, K. K. *et al.* Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 12, p.2634-2640, 2011.

SENA, M. F. *et al.* Mesquite bean and cassava leaf in diets for Nile tilapia in growth. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, Maringá, v. 34, n. 3, p.231-237, 2012.

SILVA, F. V. *et al.* Características morfométricas, rendimentos de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-nylo em diferentes faixas de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v. 38, n. 8, p.1407-1412, 2009.

SILVA, G. F. *et al.* **TILÁPIA-DO-NILO**: Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná. Curitiba: Gia, 2015.

SILVA L. C. R. *et al.* Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39:1175-1179, 2010.

SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p.983-990, 2003.

SILVA, T. F. A. *et al.* Effects of the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* on growth performance, hematology and intestinal morphometry in cage-reared Nile tilapia. **Latin American Journal Of Aquatic Research**, Jaboticabal, p.963-971, 2015.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Nutritime**, p. 817-836, 2009.

SIQUEIRA, T. V. Aquicultura: a nova fronteira para produção de alimentos de forma sustentável. **BNDES**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 49, p.119-170, 2018.

SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum**, Maringá, p.897-901, 2001.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J.; PIZAURO JÚNIOR, J. M. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande, p.79-93, 2009.

TAVARES-DIAS, M. (Org.). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. **Embrapa**, Macapá, p.1-724, 2009.

TAW, N. Biofloc Technology Expanding At White Shrimp Farms: Biofloc Systems Deliver High Productivity with Sustainability. **Global Aquaculture Advocate**. Malaysia, p. 20-22. jun. 2010.

TOYAMA, G. N.; CORRENTE, J. E.; CYRINO, J. E. P. Suplementação de vitamina c em rações para reversão sexual da tilápia do Nilo. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 2, p.221-228, 2000.

VALENTI, W. C. A aquicultura brasileira é sustentável? **Aquafair**, Florianópolis, p.1-11, 2008.

VALENTI, W. C. (Ed.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq, 2000. 399 p.

VERSCHUER, L. *et al.*, Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, p. 655-671, 2000.

VICENTINI, C. A. *et al.* Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **Internacional Journal of Morphology**, Bauru, v.23 n.3, p.211-216, 2005.

WASIELESKY, W. *et al.* Cultivo de camarões em sistema de bioflocos: realidades e perspectivas. **Associação Brasileira de Criadores de Camarão** Rio Grande, p.30-36, 2013.

XIE, D. *et al.* Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, China, p.696-703, 2017.

YOUSEFIAN, M.; AMIRI, M. S. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. **African Journal Of Biotechnology**, Iran, p.7313-7318, 2009.