

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PODE-SE MELHORAR O BEM-ESTAR EM TILÁPIA DO NILO POR MEIO DE  
SELEÇÃO GENÉTICA?

Autor: Filipe Chagas Teodózio de Araújo  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Dezembro - 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PODE-SE MELHORAR O BEM-ESTAR EM TILÁPIA DO NILO POR MEIO DE  
SELEÇÃO GENÉTICA?

Autor: Filipe Chagas Teodózio de Araújo  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Dezembro - 2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

A663p

Araújo, Filipe Chagas Teodózio de  
Pode-se melhorar o bem-estar em tilápia do nilo por meio de seleção genética? / Filipe Chagas Teodózio de Araújo. -- Maringá, PR, 2020.  
74 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Genética. 2. Avaliação genética. 3. Bem-estar animal. 4. Peixes - Estresse. 5. Peixes - Expressão gênica. I. Oliveira, Carlos Antonio Lopes de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 639.3774



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PODE-SE MELHORAR O BEM-ESTAR EM TILÁPIA DO  
NILO POR MEIO DE SELEÇÃO GENÉTICA?

Autor: Filipe Chagas Teodózio de Araújo

Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADO em 18 de dezembro de 2020.

---

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

---

Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh

---

Prof. Dr. Angelina Bossi Fraga

---

Prof. Dr. Ricardo Souza  
Vasconcellos

---

Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira  
Orientador

*A vida foi feita para se viver, caso contrário, não seria tão fácil de perdê-la...*

*“Chagas Araújo”*

*Ao meu avô Anacleto Coutinho e ao meu filho Filipe Filho*

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado força e coragem para enfrentar todos os obstáculos da minha vida.

Ao meu orientador Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira, por ter aceito como orientado, sempre paciente e amigo durante todo trabalho. Muito obrigado pela oportunidade.

Ao professor Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, que deu todo seu apoio e sempre se colocou à disposição para ajudar.

À Dr<sup>a</sup>. Angelina Bossi Fraga, que sem seu apoio e incentivo, nada disso teria acontecido. Muito obrigado!

Ao meu avô Anacleto Coutinho, que aprendi muito com seu conhecimento, caráter, suas conversas e no dia a dia em sua loja que muito tempo passei.

Aos meus pais, Ernesto de Araújo Neto e Maria Inez Chagas Teodózio de Araújo, que apesar de tudo sempre me apoiaram, não deixando faltar nada e dando todas as condições para que eu estudasse. Muito obrigado por tudo, amo vocês.

Aos meus irmãos, Arthur Chagas e Rodrigo Chagas, por estarem juntos comigo nessa batalha. Sempre juntos e unidos (Os Irmão!).

Aos meus tios, Ronaldo Constante e Maria Tereza Chagas, que me acolheram em sua residência, com todo amor, carinho e assistência necessária para minha formação. Muito obrigado. E, aos meus primos, Daniel, David, Danilo, Pedro, Bruno e toda minha família que sempre estiveram ao meu lado.

À minha esposa, Suellen Francisca Biuk, por ter paciência e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Te amo minha princesa albina...

Aos meus sogros Augusto e Zuleica. E, as minhas cunhadas e concunhados Alexandra, Grazielle, Adriano e Cléber. Muito obrigado!

A todo grupo de pesquisa PeixeGen, aos funcionários da CODAPAR – Vitão, Cleiton e Zé Puta, pelo acolhimento. Muito obrigado! E, aos professores e funcionários do PPZ-UEM que contribuíram para a minha formação profissional. Obrigado!

A CAPES, por conceder a bolsa de estudos.

A todos os meus amigos, em especial, Eric, Humberto, Jailton, Rodrigo, Karla, Laís, Gustavo, Gabriel, Pingola, Bunda, Pedrinho pegação (falta o grave), Fernando (o mair lambe charque do PR) e Leozão (O rei do butica “midê papai”), por contribuírem de alguma forma para minha formação. Obrigado a todos!

## BIOGRAFIA

Meu nome é Filipe Chagas Teodózio de Araújo, filho de Ernesto de Araújo Neto e Maria Inez Chagas Teodózio de Araújo, tenho 27, casado, pai de um menino e natural de Maceió-AL. Ainda na infância me mudei para uma fazenda no interior do estado onde vivi até a adolescência com meu pai, minha mãe e dois irmãos.

Pelo fato de meu pai ser agricultor e minha mãe ser professora, sempre fui incentivado a desenvolver habilidades aliadas ao campo e ao hábito pela leitura. Além disso, tive muito contato com o comércio através do meu avô, um comerciante nato que é o alicerce de toda família. Muito provavelmente, esses foram os motivos para escolher o curso de Bacharel em Zootecnia, visto que o agro é campo, pesquisa e comércio.

Aos 17 anos, voltei à capital Maceió para fazer o tão sonhado curso superior. Nesse período, passei a morar com meus tios Ronaldo e Maria Tereza. Na casa deles, morei durante os 4 anos da graduação (2010 - 2014) e os 2 anos do Mestrado (2014 - 2016), ambos realizados na Universidade Federal de Alagoas. Essa etapa da minha vida foi de grande aprendizado, pois, além do conhecimento adquirido na área, foi a minha primeira experiência longe da casa dos meus pais, tempo em que desenvolvi grande senso de responsabilidade e autoconfiança.

Em 2017, iniciei o doutorado pelo programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, onde moro atualmente. A realização do doutorado foi uma das etapas que mais marcou minha vida, pois eu pude mostrar a muitas pessoas que, assim como eu, “estudante de escola pública de interior e filho de um pequeno agricultor e de uma professora”, todos podem conquistar seus sonhos se tiver foco, determinação e um objetivo definido.

Por fim, digo que as experiências conquistadas ao longo dos anos, na área de Zootecnia, com ênfase em Melhoramento dos Animais Domésticos, Estatística Experimental, Aquicultura, Ovinocultura e Bovinocultura me tornaram um profissional com perfil para trabalho em equipe, pesquisa, vendas, planejamento estratégico, estudo de mercado e gestão integrada.



## ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1. Considerações preliminares.....	11
2. Sobre as Tilápias.....	12
3. Bem-estar Animal.....	15
4. Adaptabilidade e Resposta ao estresse em peixes.....	18
5. Glicose em peixes.....	20
6. Proteína transportadora de glicose tipo 1 ( <i>GLUT1</i> ).....	21
LITERATURAS CITADAS.....	24
<b>II. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>30</b>
<b>III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>30</b>
<b>IV. Comportamento glicêmico em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</b>	<b>31</b>
Resumo.....	31
1. Introdução.....	33
2. Metodologia.....	35
2.1. Comportamento glicêmico em diferentes períodos de jejum.....	35
2.2. Comportamento glicêmico em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo.....	36
3. Resultados.....	38
3.1. Comportamento glicêmico em diferentes períodos de jejum.....	38
3.2. Comportamento glicêmico em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo.....	39
4. Discussão.....	41
5. Conclusão.....	44
6. Referências.....	45
7. Anexos.....	48
<b>V. Pode-se melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) por meio de seleção genética?.....</b>	<b>51</b>
Resumo.....	51
1. Introdução.....	53
2. Metodologia.....	54
2.1. Local.....	54
2.2. Estimção de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo.....	54
2.3. Expressão dos genes Catalase e Glucose Transporte.....	56
2.4. Resposta ao manejo.....	58
3. Resultados.....	59
3.1. Estimção de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo.....	59
3.2. Expressão dos genes Catalase e Glucose Transporte.....	60
3.4. Resposta ao manejo.....	60
4. Discussão.....	62
4.1. Estimção de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo.....	62
4.2. Expressão dos genes Catalase e Glucose Transporte.....	63
4.3. Resposta ao manejo.....	65
5. Conclusão.....	67
6. Referências.....	68

## LISTA DE TABELAS

Páginas

<b>IV. Comportamento glicêmico em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</b>	<b>31</b>
<b>Tabela 1</b> – Parâmetros de qualidade de água dos experimentos.....	<b>38</b>
<b>Tabela 2</b> – Estatística descritiva e teste de médias do nível sérico de glicose, peso, comprimento total, comprimento padrão, fator de condição, tempo de espera e tempo de colheita em relação ao sexo em Tilápia do Nilo.....	<b>38</b>
<b>Tabela 3</b> – Estatística descritiva e teste de médias do nível sérico de glicose e peso em relação ao sexo em tilápia do Nilo.....	<b>40</b>
<b>Tabela 4</b> - Estatísticas descritivas e análise de variância dos níveis glicêmicos (GL), peso vivo (PV), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), fator de condição (FC), tempo de espera (TE) e tempo de colheita (TC) em vários intervalos de jejum em Tilápia do Nilo.....	<b>48</b>
<b>Tabela 5</b> – Estatísticas descritivas e análise de variância dos níveis glicêmicos e peso em diferentes horários quando submetidos ao período de jejum sugerido pela primeira etapa.....	<b>49</b>
<b>Tabela 6</b> – Cronograma de colheita sanguínea (experimento 1).....	<b>50</b>
<b>V. Pode-se melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) por meio de seleção genética?.....</b>	<b>51</b>
<b>Tabela 1</b> – Número de Animais (ANI), número médio de progênies por família (PF), nível de glicose (GL) e peso vivo (PV).....	<b>55</b>
<b>Tabela 2</b> – Fatores com "X " foram os que compuseram os modelos nas análises unicaracter.....	<b>56</b>
<b>Tabela 3</b> – Primers utilizados para a reação quantitativa em cadeia de polimerase em tempo real (RT-qPCR).....	<b>57</b>
<b>Tabela 4</b> – Parâmetros de qualidade de água dos experimentos.....	<b>59</b>
<b>Tabelas 5</b> - (Co)variâncias, herdabilidades e correlação genéticas das características nível de glicose (GL) e peso vivo (PV) em Tilápia do Nilo obtidas em análises bicaracter.....	<b>59</b>
<b>Tabelas 6</b> – Resposta direta e correlacionada e seus respectivos ganhos das características nível de glicose em mg/dL (GL) e peso vivo em g (PV).....	<b>60</b>
<b>Tabela 7</b> – Resposta ao estresse em dois grupos de Tilápias do Nilo (alto e baixo valor genético-VG para glicose) antes e depois de um manejo de rotina quando considerado 10% dos melhores indivíduos de cada grupo.....	<b>61</b>

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 1:</b> Semelhança entre o peixe e o homem (Adaptado: Pedrazzani et al., 2007).....	<b>17</b>
<b>IV. Comportamento glicêmico em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 1</b> – Modelo de regressão segmentada na avaliação da glicemia em relação ao período de jejum em Tilápia do Nilo.....	<b>39</b>
<b>Figura 2</b> – Comportamento da glicemia em tilápia do Nilo submetidas ao período de jejum de 12 a 21 horas.....	<b>40</b>
<b>Figura 3</b> – Procedimentos para a coleta dos dados do experimento 1.....	<b>50</b>
<b>V. Pode-se melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) por meio de seleção genética?.....</b>	<b>51</b>
<b>Figure 1</b> – Análise de expressão dos genes Catalase ( <i>CAT</i> ) e Glucose Transporter e ( <i>GLUT1</i> ) em Tilápia do Nilo.....	<b>60</b>

## RESUMO

A preocupação sobre as condições que os animais de produção são criados e manejados vem sendo discutido em nível mundial, por consumidores, pesquisadores e órgãos que trabalham em prol do bem-estar animal. O desenvolvimento de ferramentas para a seleção de animais que apresentam melhor condicionamento as condições de cultivo, podem ser uma alternativa para a produção de linhas genéticas mais robustas. Neste sentido, esta pesquisa trata da avaliação de indicadores para melhorar o condicionamento ao ambiente de cultivo em peixes, utilizando para isso a glicose plasmática, objetivando responder a seguinte indagação: pode-se melhorar o bem-estar da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de seleção genética? Para isso, foram realizados cinco experimentos. O primeiro experimento avaliou os níveis séricos de glicose em diferentes tempos de jejum. O segundo experimento avaliou o comportamento da glicemia em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo. Em seguida, foram estimadas as herdabilidades e demais parâmetros genéticos das características nível de glicose sanguínea (GL) e peso vivo (PV) (experimento 3). Com essas informações foi possível identificar dois grupos distintos um constituído por animais com baixo valor genético para GL (EBV Low) e outro com animais de alto valor genético para GL (EBV High) o que possibilitou avaliar a expressão dos genes Catalase (*CAT*) e Glucose transporte 1 (*GLUT1*) (experimento 4). No quinto experimento foi avaliado a resposta ao manejo entre os grupos EBV Low e EBV High. A herdabilidade estimada para GL (0,26) e a correlação positiva e favorável entre GL e PV (0,32) indicam variabilidade genética suficiente para utilização da característica como critério de seleção. As respostas a seleção direta e correlacionada mostraram ganhos genéticos para ambas características. A expressão do gene *CAT* entre os grupos não apresentou diferença. Por outro lado, a expressão do gene *GLUT1* teve maior expressão no grupo EBV High (0,013 UA) em comparação ao grupo EBV Low (0,005 UA). A resposta ao manejo indicou que os animais do grupo EBV High são mais condicionados ao sistema de cultivo apresentando desempenho superior após um manejo estressante. De acordo, com a relação entre a animal-ambiente-glicose, conclui-se que a seleção genética pode sim melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** avaliação genética, bem-estar animal, condicionamento ambiental, estresse, expressão gênica, jejum em peixe

## ABSTRACT

Concern about the conditions in which farm animals are raised and handled has been discussed worldwide, by consumers, researchers and agencies that work to promote animal welfare. The development of tools for the selection of animals that present better conditioning to the cultivation conditions, can be an alternative for more robust genetic lines production. In this sense, this research deals with the evaluation of indicators to improve the conditioning to the fish farming environment, using plasma glucose for this purpose, aiming to answer the following question: Is it possible to improve the welfare of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) through genetic selection? For this, four experiments were carried out. The first experiment evaluated serum glucose levels at different times of fasting. The second experiment evaluated the behavior of blood glucose at various times of blood collection within a fixed fasting interval. Then, the heritability and other genetic parameters of the characteristics blood glucose level (GL) and live weight (PV) were estimated (experiment 3). With this information it was possible to identify two distinct groups, one consisting of animals with low genetic value for GL (EBV Low) and the other with animals with high genetic value for GL (EBV High), which made it possible to evaluate the expression of Catalase (*CAT*) and Glucose transport 1 (*GLUT1*) (experiment 4). In the fifth experiment, the response to management between the EBV Low and EBV High groups was evaluated. The estimated heritability for GL (0.26) and the positive and favorable correlation between GL and PV (0.32) indicate sufficient genetic variability to use the trait as a selection criterion. The responses to direct and correlated selection showed genetic gains for both traits. The *CAT* gene expression between the groups showed no difference. On the other hand, the *GLUT1* gene expression had greater expression in the EBV High group (0.013 AU) compared to the EBV Low group (0.005 AU). The response to management indicated that the animals in the EBV High group are more conditioned to the culture system, presenting superior performance after a stressful management. According to the relationship between animal-environment-glucose, it is concluded that genetic selection can indeed improve well-being in Nile Tilapia.

**Keywords:** genetic evaluation, animal welfare, environmental conditioning, stress, gene expression, fasting in fish

## I. INTRODUÇÃO

### 1. Considerações preliminares

A produção aquícola global, segundo a FAO (2020) é de 179 milhões de toneladas e deve aumentar ainda mais, podendo alcançar 204 milhões de toneladas em 2030. No ano de 2014 foi observado, pela primeira vez, aumento na produção de cultivo em relação às capturas extrativistas (FAO, 2018). Vale ressaltar, que os produtos provenientes da pesca sempre dominaram a mesa do consumidor, porém, segundo o último levantamento 52% dos peixes consumido no mundo são provenientes da aquicultura. (FAO, 2020).

A FAO (2020) projeta para América Latina e o Caribe, a redução de -4,7% na produção pesqueira (pesca e aquicultura), até 2030, passando de 17,59 milhões de toneladas para 16,73 milhões de toneladas. O Brasil deve registrar crescimento de 32,2% na produção da pesca e aquicultura em 2030 (FAO, 2020).

A América Latina e o Caribe até 2030 irão apresentar uma expansão importante na produção aquícola (peixe de cultivo) podendo chegar a 32,8%, saltando de 3,14 milhões de toneladas para mais de 4,17 milhões de toneladas. O crescimento da atividade no Brasil se deve aos investimentos feitos nos últimos anos, nas áreas de nutrição, reprodução, sanidade, políticas públicas e principalmente em material genético de qualidade. No entanto, é registrado o menor consumo *per capita* de apenas 9,8 kg/ano menos da metade da média global (20,5 kg de peixe/ano) e abaixo do recomendado pela FAO que é de 12 kg de peixe/habitante/ano. Em 2015, a região consumiu apenas 6,2 milhões de toneladas de pescado, menos que todas as outras regiões do mundo (FAO, 2020).

Até 2030, espera-se que o consumo total de pescado aumente em todas as regiões e sub-regiões, com forte crescimento projetado na América Latina (+ 33%), África (+27%), Oceania (+22%) e Ásia (+19%) (FAO, 2020). Segundo o mesmo relatório o desenvolvimento de projetos e políticas públicas que incentivem a inclusão de peixe na alimentação escolar e em outros setores poderia aumentar de forma significativa o consumo *per capita* na região.

No Brasil a produção de peixes de cultivo teve aumento de 4,9% atingindo a produção de 758.006 toneladas com base no último levantamento da PeixeBR (2020). As espécies de Tilápias são os peixes mais cultivados (432.149 toneladas) representando 57% da produção nacional, mantendo o país como o quarto maior produtor de Tilápias do mundo e mostrando a importância dessa espécie no setor aquícola brasileiro. Os peixes

nativos seguem firmes como a segunda espécie mais importante para o setor contribuindo com 38% da produção brasileira, sendo o Tambaqui o destaque entre eles (PeixeBR, 2020).

## 2. Sobre as Tilápias

As Tilápias são originárias da África, Jordânia e Israel, são representadas aproximadamente por 70 espécies distintas. Recentemente, as tilápias de importância econômica estão divididas em três principais grupos taxonômicos, tendo como base o comportamento reprodutivo, como as do gênero *Tilapia* spp (incubam seus ovos em substratos), *Oreochromis* spp (incubam os ovos na boca da fêmea) e *Sarotherodon* spp (incubam os ovos na boca de ambos) (Carvalho Filho, 1995, Crosseti, et al., 1988).

Com base em registros históricos (pinturas egípcias) a criação de Tilápias visando a alimentação humana existe desde 2500 anos a.C. Há relatos de que a tilápia foi o peixe que Jesus multiplicou para alimentar a multidão faminta. Tal fato inclusive, é aproveitado atualmente como mote de grande campanha de marketing orientada por especialistas israelenses, que passaram a chamar a tilápia de St. Peter's fish ou peixe de São Pedro (Popma & Lovshin, 1995). Porém, sua criação teve início no Quênia, apenas em 1927 com técnicas muito rudimentares e sem uma espécie específica. Em 1950 na África, foi quando o cultivo da tilápia de forma mais organizada foi iniciado e teve grande impulso a partir de estudos desenvolvidos entre 1961 e 1965. Nesse período novos métodos foram desenvolvidos e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) passou a ser o peixe referência, respondendo bem as novas técnicas e mostrando resultados surpreendentes (Lima, 2003).

No Brasil a primeira introdução da tilápia foi em 1953, no estado de São Paulo. A espécie escolhida foi a *Tilapia rendalli* do Congo com a justificativa de aproveitar as plantas aquáticas superiores e algas, dos reservatórios hidrelétricos da Light São Paulo (holding Brazilian Traction Light and Power Co. Ltd.) e das propriedades agrícolas (Lima, 2003). Posteriormente, em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) introduziu a espécie Tilápia Nilótica (*O. niloticus*) visando o povoamento dos reservatórios públicos na região do Nordeste. No entanto, o baixo índice produtivo da primeira espécie introduzida (*Tilapia rendalli*) e a alta prolificidade e consanguinidade da segunda (*Oreochromis niloticus*) foram os principais entraves encontrados (Oliveira et al., 2007). O que levou muitos pesquisadores a considerarem essas importações como o maior fracasso da piscicultura das últimas décadas, sendo indesejável e até considerada como praga (Popma & Lovshin, 1995).

Esses fatores aliados a necessidade de substituir a tilápia do Congo, que apesar de bastante disseminada não apresentava resultados satisfatórios, a Tilápia do Nilo e a Tilápia de Zanzibar foram introduzidas no estado de São Paulo, em 1973 (Lima, 2003). Em 1981, foram introduzidas as Tilápias vermelhas, *Oreochromis mossambicus* (Tilápia de Moçambique). Porém, a consanguinidade e a falta de programas de melhoramento genético trouxeram os mesmos problemas que foram relatados nas introduções anteriores. Em 1996, houve a importação de uma linhagem dita melhorada da Tilápia Nilótica, população Chitralada. Em 2002, foi introduzida uma nova linhagem de Tilápia Nilótica, a GenoMar Supreme Tilapia, e depois a FishGen (Genetically Male Tilapias – GMT) (Oliveira et al., 2007).

Por fim, em 2005 foi introduzida linhagem GIFT de Tilápia do Nilo, da Malásia, entre uma parceria da WorldFish Center com a Universidade Estadual de Maringá dando início ao desenvolvimento de uma variedade melhorada adaptada às condições brasileiras de cultivo (Ribeiro & Vargas, 2011). A introdução das linhagens melhoradas e o uso da técnica de incubação artificial, com controle do sexo, deram novo impulso à atividade e se iniciou a fase industrial da tilapicultura brasileira.

Após um início conturbado as Tilápias reapareceram nos viveiros brasileiros e de outros países. Com o auxílio de novas técnicas de manejos, nutrição e um consolidado programa de melhoramento genético, tornou-se, o primeiro peixe mais cultivado no Brasil e o terceiro mais cultivado no mundo, ficando atrás apenas de duas espécies de carpa. Algumas das características que colocaram as tilápias no pódio das principais espécies cultivadas comercialmente são:

- facilidade de reprodução e obtenção de alevinos;
- possibilidade de manipulação hormonal do sexo para obtenção da masculinização;
- capacidade de aproveitar alimentos naturais em viveiros;
- conversão alimentar entre 1 a 1,8;
- boa aceitação de diversos tipos de alimentos;
- bom crescimento em cultivo intensivo (5 a 500g em 4 a 5 meses);
- grande rusticidade, ao manuseio intenso e os baixos níveis de oxigênio dissolvido na produção, além, de excelente resistência às doenças;
- carne branca, de textura firme, sem espinhos, de sabor pouco acentuado e de boa aceitação.



Vale ressaltar que os programas de melhoramento genético de Tilápias conduzidos no Brasil são considerados, em se tratando de espécies tropicais, referência no mundo. Dentre eles, destacam-se PMGT/UEM com a variedade TILAMAX e COPACOL no PR, Aquaporto/Aquaamerica – Brasil, Aquabel/Aquagen – Brasil, Royal Fish – Rei da Tilápia e SPRING Genetics em SP, DNOCS no CE, EPAGRI em SC, UFLA, UFMG e UFVJM em MG.

No entanto, muito tem que se trabalhar quando se trata da piscicultura nacional. As diferentes condições edafoclimáticas, de sistemas de cultivos e demanda do mercado consumidor existentes no Brasil, poderão levar ao desenvolvimento de linhagens específicas para cada região, sistema de produção e mercado a ser atendido. Neste sentido, algumas características poderão ser utilizadas como critério de seleção em programas de melhoramento genético. Dentre elas pode-se citar a redução do dimorfismo sexual, conversão alimentar, aspectos sanitários: resistência a patógenos, rendimento e qualidade de file e o bem-estar animal.

Levando em consideração o atual mercado consumidor uma das características citadas acima merece destaque – é o caso do bem-estar animal. O bem-estar dos animais de produção é discutido não somente entre grupos que trabalham em defesa dos direitos dos animais, mas uma discussão à nível mundial, fazendo parte da legislação da Comunidade Comum Europeia e da Organização Mundial de Saúde Animal a World Organisation for Animal Health (OIE, 2014). Segundo Freitas et al. (2017), o preço dos produtos de origem animal, em alguns mercados, não é mais o precursor para a aquisição pela sociedade, atualmente, as exigências em termos de práticas humanitárias em todas as etapas do sistema de produção (manejo na propriedade, durante o transporte e no abate) têm sido bastante questionadas pelos consumidores.

A busca por melhor interação animal-ambiente-instalação, também é muito importante para o aumento da produtividade de todo sistema, além de proporcionar aos animais um ambiente mais saudável. Vale ressaltar que animais menos adaptados são mais estressados e tendem a ter baixos desempenhos produtivos e reprodutivos e são mais suscetíveis a doenças. Além disso, animais com elevado nível de estresse apresentam produtos com características organolépticas e tempo de prateleira inferior a animais não estressado (Mendes et al., 2015), prejudicando assim, toda cadeia produtiva.

### **3. Bem-estar Animal**

Desde que o conceito de bem-estar animal foi citado pela primeira vez em 1995, inúmeras definições para bem-estar animal foram criadas, entre elas pode-se citar “o bem-estar, refere-se, ao estado de adaptação de um indivíduo em relação a um ambiente” (Broom, 1986). Dessa forma, o bem-estar animal está intimamente associado aos conceitos de necessidades, liberdades, felicidade, controle, capacidade de previsão, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, saúde, estresse e adaptação (Broom, 1986).

Sendo assim, a fim de avaliar o bem-estar animal dentro de um sistema de produção, é necessário primeiro conhecer como esses animais se comportam em ambientes naturais. Neste aspecto, o estudo do comportamento dos animais (etologia) traz uma visão fundamental do conhecimento e respeito à biologia e fisiologia destes indivíduos. As pesquisas desenvolvidas nessa área auxiliam a adaptar sistemas de produção e desta forma obter melhores resultados econômicos, seja aumentando a eficiência do sistema de criação e/ou obtendo produtos de melhor qualidade.

A preocupação sobre as condições que os animais de produção são criados e manejados vem sendo discutido a nível mundial, por grupos de pesquisas e órgãos que trabalham em defesa da preservação do bem-estar animal (OIE, 2014). A avicultura, suinocultura e bovinocultura estão sendo pressionadas (OIE, 2014) e em muitos casos taxadas, por esses órgãos, como produtoras de dor e sofrimento aos animais em prós de maior lucratividade do sistema. Como exemplo, pode-se citar o furto das aves em 2016 do campus da USP em Pirassununga, ligados ao movimento veganos e de proteção aos animais.

Porém, nada é mencionado sobre a piscicultura ou até mesmo sobre as pescas esportivas. São comuns programas televisivos sobre pesca esportiva, os quais mostram a captura de peixes através de um anzol que rotineiramente está fixado na boca do animal e desse modo, o mesmo, é arrastado para o barco sem causar nenhum trauma ou remorso por parte de quem está assistindo ou de entidades que prezam pelo bem-estar animal. Neste contexto, surge a indagação: “os peixes são animais sencientes?”

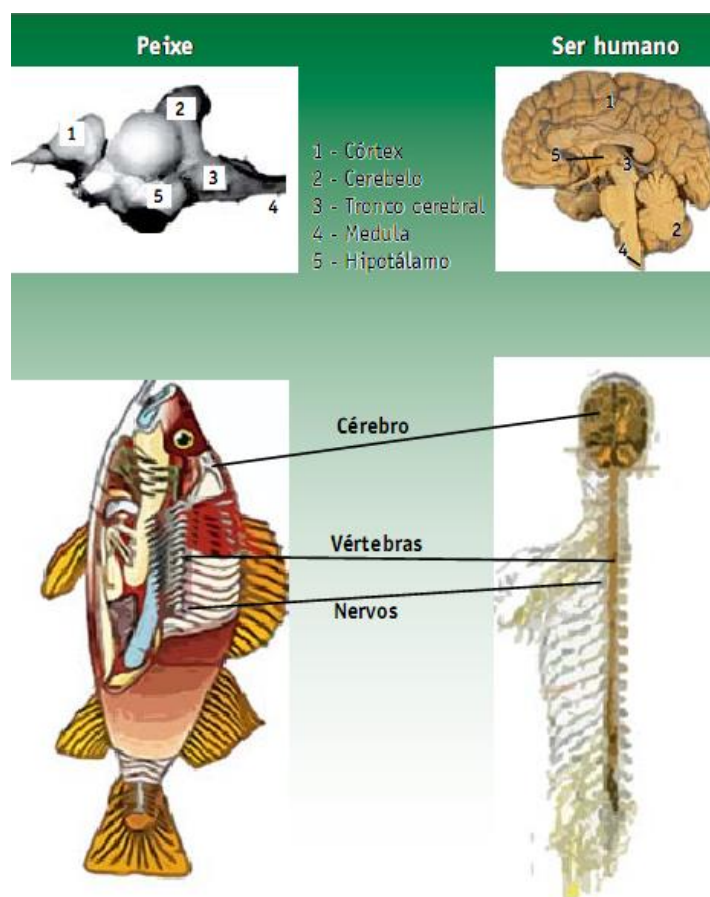
As pesquisas referentes ao bem-estar dos peixes durante as etapas de produção se encontram em passos iniciais no Brasil e no mundo. Sendo praticamente desconhecido para consumidores, produtores e legislação vigente. No entanto, a maioria das evidências apontam para a senciência em peixes (Pedrazzani et al., 2007). Dessa forma, subtende-se, que os peixes têm a capacidade de sentir sensações e sentimentos de forma consciente,

ou seja, têm a capacidade de ter percepções conscientes do que lhes acontecem e do que os rodeiam.

Alguns exemplos de que os peixes são animais conscientes e sentem dor, pode citar: os confrontos entre Tilápias, para intimidar seu oponente os machos eles mudam de cor, ficando com um tom mais avermelhado, evitando assim, brigas prolongadas. A mudança da cor do corpo das Tilápias pode ser indicativa de que os peixes conservam memórias e sugerem que, os mesmos, possuem consciência (Pedrazzani et al., 2007).

Com relação aos peixes sentirem dor, estudos mostram que a região do cérebro que transfere o estado de dor nos outros vertebrados é o mesmo nos peixes (Figura 1). Vale ressaltar, que as reações metabólicas e comportamentais quando os peixes passam por situações de estresse, segundo Pedrazzani et al. (2007), reforça a evidência de que os peixes podem sentir e reagir de maneira consciente aos diversos estímulos de forma similar aos mamíferos, com base nos conceitos de fisiologia e psicologia (Figura 1).

Neste aspecto, a preservação do bem-estar na piscicultura é tão importante quanto na avicultura, suinocultura e bovinocultura. Sendo assim, da mesma maneira que, atualmente, o consumidor e/ou legislações cobram pelo bem-estar dos outros animais de produção, começará a fazer considerações sobre o bem-estar dos peixes.



**Figura 1:** Semelhança entre o peixe e o homem (Adaptado: Pedrazzani et al., 2007).

A preservação do bem-estar nos peixes se torna muito importante para o mercado piscícola, pois estudo conduzido na Universidade Federal do Paraná, pelo Laboratório de Bem-estar Animal - LABEA/UFPR, no Município de Araucária, Paraná, com o objetivo de saber a opinião da população da região sobre a capacidade dos peixes em sentir sensações e sentimentos de forma consciente. Teve como resultados que, das 357 pessoas questionadas, 87,5% acreditavam que os peixes sentem dor (Pedrazzani et al., 2008).

Neste contexto, há reconhecimento do estado de consciência dos peixes, por parte dos consumidores. Este resultado pode ser uma alternativa para o setor, no qual, o produtor que preza pelo manejo consciente dos animais e pela preservação do bem-estar dos mesmos, poderá agregar valor aos produtos. Além, de quebrar o paradigma, de boa parte da sociedade, de que os animais de produção vivem em condições indignas, tornando assim, o setor da piscicultura bem visto pelos consumidores.

No entanto, não é tão simples dentro de um sistema de produção lidar com os estressores ambientais, que podem na extensão que excedem as capacidades de defesa e de compensação dos animais, afetar adversamente o desempenho, a saúde e o bem-estar dos animais. Porém, o manejo ambiental pode através da seleção de animais mais

adaptados aos sistemas de cultivos, projetos, operações racionais das instalações e equipamentos reduzir ou eliminar os efeitos do estresse, suas respostas e incrementar a lucratividade do empreendimento zootécnico.

#### **4. Resposta ao estresse em peixes**

A intensificação dos sistemas de cultivos tende a proporcionar aos peixes de produção, ambientes que diferem daqueles encontrados em seu habitat natural, essas mudanças podem resultar na perturbação da homeostasia do peixe. A manutenção do equilíbrio homeostático interno é de extrema importância para manter as funções normais dos animais. No caso dos peixes, qualquer perturbação no equilíbrio homeostático, fará com que o mesmo, tente estabelecer um novo equilíbrio. Essas reações comportamentais e fisiológicas são comumente referidas como resposta ao estresse (Silva et al., 2012).

De acordo com Wendeelar-Bonga (1997), o estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, ou homeostase, é ameaçado ou perturbado em decorrência da ação de estímulos intrínsecos denominados estressores. Pelo fato de os peixes serem animais pecilotérmicos, os mesmos, encontram em constantes desafios, desde as características físico-químicas da água, até conflitos com outros animais (Barton, 1988). Em sistema de cultivo todos esses estressores ambientais são somados aos de manejo, como: biometrias, transporte, tratamentos, coletas de ovos e densidades elevadas.

As mudanças fisiológicas desencadeadas quando o peixe reage a ocasiões estressantes aliadas a tentativa de compensação é denominada de resposta ao estresse (Wedemeyer et al., 1990). Moberg (1985) propôs que a resposta ao estresse seja dividida em três fases: resposta primária - reconhecimento de uma ameaça à homeostase; resposta secundária - resposta ao estresse propriamente dita; e resposta terciária - consequências do estresse. Cada fase é composta por eventos biológicos distintos que são desencadeadas pela percepção do estressor pelo sistema nervoso central (Barton, 1988).

Para exemplificar as fases do estresse proposto por Moberg (1985), considere que: quando o peixe sofre algum estresse, os corticosteroides são liberados na corrente sanguínea no momento do estresse (primária), que induz a gliconeogênese a aumentar a disponibilidade de glicose para o metabolismo (secundária). Porém, esse aumento (gluconeogênese) se dá pelo metabolismo lipídico e proteico, prejudicando assim, o crescimento do peixe, a resposta imune e os processos reprodutivos (terciária).

Neste contexto, pode-se dizer que a resposta ao estresse em peixes ocorre com resposta endócrina, metabólica que irá influenciar no desempenho do animal. A resposta endócrina ao estresse (primária) se dá principalmente pela liberação dos corticosteroides plasmáticos, em geral, pelo cortisol e das catecolaminas, destacando-se a adrenalina (epinefrina). A resposta metabólica ao estresse (secundária) seria a elevação dos níveis circulantes de glicose (hiperglicemia). Outras respostas metabólicas ao estresse seriam alterações no lactato plasmático, glicogênio hepático, equilíbrio hidrominário e características hematológicas (Mazeud et al., 1977, Wedemeyer & Mcleay 1981, Wedemeyer et al., 1984). Como consequência as respostas endócrina e metabólica são as mudanças nos desempenhos dos indivíduos (terciária).

Com base nas mudanças nos níveis plasmáticos de cortisol e glicose, segundo Barton (1988), podem ser manifestados sete casos generalizados sobre as respostas ao estresse em peixes:

1. o grau de resposta depende da gravidade e duração do estressor;
2. as respostas ao estresse são cumulativas;
3. fatores ambientais afetam as respostas ao estresse;
4. o peixe habituou ao estresse;
5. as respostas ao estresse não são universais;
6. há um custo metabólico associado ao estresse e;
7. fatores genéticos e ontogenéticos também influenciam as respostas ao estresse.

Assim, a resposta ao estresse pode ser uma ferramenta muito importante para a seleção dos indivíduos melhor condicionados aos manejos da aquicultura, sobretudo para aqueles cultivados em sistemas intensivos de produção, os quais tendem a ser mais estressantes, e, atualmente estão em expansão no Brasil e no mundo (Correa et al., 2006). Vale ressaltar que, quando o animal está submetido a estresse intenso e constante, a resposta fisiológica pode não ser mais eficaz e se torna disfuncional, acarretando danos permanentes à saúde e bem-estar animal (Carmichael, 1984), prejudicando todo sistema de produção.

Neste contexto, Paranhos da Costa (2000) e Haskell et al. (2014), relatam que a seleção de animais de forma a diminuir as reações agressivas durante o manejo é essencial para garantir o bem-estar animal e a eficiência do sistema de produção.

Segundo Simões & Gomes (2009), as variáveis hematológicas, como a glicose, são de grande importância para o auxílio de diagnósticos de estresse em peixes. Isso se justifica, pois, os peixes por serem animais pecilotérmicos tem maior interação com o

ambiente em que vivem, fazendo com que as análises sanguíneas mostrem condições de estresse ou estado de saúde dos animais, antes que ocorram manifestações clínicas notáveis pelo produtor (Barbieri & Bondioli, 2015).

## **5. Glicose em peixes**

Para o funcionamento normal dos órgãos do corpo o ser vivo necessita de energia. A maioria dos tecidos utilizam como fonte de energia a gordura ou proteína, no entanto, as células do cérebro e as de defesa, como os glóbulos vermelhos, utilizam apenas a glicose como fonte energética (Polakof et al., 2012). Por isso que, em caso de estresse crônico o indivíduo tende a ficar com a imunidade debilitada, pois a glicose que seria fonte de energia para as células de defesa é destinada para outros tecidos

Quando não utilizada à glicose é armazenada no corpo como glicogênio. O principal órgão responsável pelo armazenamento do glicogênio é o fígado. Quando a glicose circulante vinda da alimentação diminui o glicogênio hepático e muscular é degradado e convertido em glicose. No entanto, entre as refeições e durante longos jejuns ou exercício intenso, a glicose armazenada nesses reservatórios não é sempre suficiente. Nessas ocasiões, o organismo tende a sintetizar glicose a partir de precursores não carboidratos (piruvato, aminoácidos e glicerol), por gliconeogênese. Ou seja, nesses casos, a gliconeogênese é responsável por manter as concentrações de glicose sanguínea, levando em consideração o momento do indivíduo (Polakof et al., 2012).

A regulação glicêmica do corpo é realizada pelo pâncreas, em virtude da ação conjunta dos hormônios insulina e glucagon. Nesse sentido, as células-beta do pâncreas são responsáveis pela produção da insulina. O papel da insulina é diminuir os níveis de glicose do sangue. Além disso, a insulina faz com que a glicose seja absorvida pelas células dos músculos, do fígado e do tecido adiposo (Moon, 2001). Nessa absorção pode formar o glicogênio, que servirá de reserva energética para os indivíduos. Por sua vez, o glucagon é liberado na corrente sanguínea pelas células-alfa do pâncreas, realizando o processo contrário da insulina, ou seja, aumentando os níveis de glicose no sangue. Isso ocorre pela sintetização do glicogênio, armazenado nas células dos músculos, do fígado e do tecido adiposo, em moléculas de glicose (Amabis & Martho, 2006).

Por ter certa ligação com o principal hormônio do estresse (cortisol), a glicose, é atualmente utilizada em diversas pesquisas como indicativo de estresse. Este fato está relacionado, pois quando o indivíduo passa por algum evento estressante, promove a liberação do cortisol na corrente sanguínea. Nos peixes, o cortisol quando liberado, atua

de duas formas: mineralocorticoides e glicocorticoides. Os mineralocorticoides têm a função de regulação osmótica e iônica. Já os glicocorticoides têm a função de estimular a glicogenólise e a gliconeogênese hepática (Wendelaar Bonga, 1997). Esse estímulo libera na corrente sanguínea grande quantidade de glicose necessária para a resposta ao estresse.

O nível sérico de glicose estimados para peixes livres de estresse tem amplitude de 29 a 93 mg/dL, por outro lado, quando estressado essa amplitude varia de 95 a 180 mg/dL (Tavares-dias & Sandrim, 1998, Deriggi, et al., 2006, Barreto & Volpato, 2006, Davis & Peterson, 2006, Miller et al., 2007, Moreira et al., 2011, Silva et al., 2012 e Barbieri & Bondioli, 2015).

A hiperglicemia após eventos estressantes é uma resposta importante do metabolismo ao estresse em peixes (Wedemeyer et al., 1984). O aumento glicêmico induz a liberação das reservas de energia (glicogênio) do tecido através da glicogenólise podendo influenciar na atividade metabólica (Love, 1980). Segundo Silva et al., (2012), a glicose passa a ser um indicativo importante de estresse em peixes teleósteos. Para Love (1980), o aumento da glicose, induzido pelo estresse, é um mecanismo de adaptação dos peixes para o fornecimento de energia durante estes eventos.

Neste contexto, acredita-se que a glicose pelo baixo custo e fácil mensuração (Chagas et al., 2007; Okamura1 et al., 2007; Simões & Gomes, 2009, EL-Khaldi, 2010, Moreira et al., 2011 e Conde-Sieira et al., 2015), apresenta-se como a principal característica em pesquisas ligadas à seleção de animais mais adaptados aos sistemas de cultivos, quando comparada aos outros parâmetros sanguíneos em peixes (cortisol, lactato, hematócrito e linfócitos circulantes).

## **6. Proteína transportadora de glicose tipo 1 (*GLUT1*)**

A captação de glicose pelas células é realizada através dos transportadores de glicose (*GLUTs*), todas as isoformas conhecidas são distintas e apresentam diferentes propriedades cinéticas e modos de regulação (Carruthers et al., 2009; Joost & Thorens, 2001). Esses transportadores facilitadores de glicose (*GLUTs*) são proteínas-chave que transportam glicose pelas membranas celulares sendo fundamentais para o controle da homeostase da glicose (Planas et al., 2000).

As proteínas transportadoras de glicose estão diretamente relacionadas ao metabolismo dos carboidratos e possuem grande importância para a entrada da glicose nas células dos tecidos periféricos. O *GLUT1* é um transportador de glicose insulino-



independente (Voet & Voet, 2006), ou seja, a captação de glicose independe da estimulação pela insulina que é ocasionada principalmente pela alimentação.

Após o nascimento, a expressão de *GLUT1* tende a diminuir, no entanto a maioria das células ainda o expressa em baixos níveis, porém suficiente para mediar a captação basal de glicose. Entretanto, a expressão de *GLUT1* permanece elevada em células que dependem principalmente da glicólise para produção de ATP, como eritrócitos e células tumorais (Liemburg-Apers et al, 2015). (Planas et al., 2000).

A capacidade celular para captação de glicose é determinada pela abundância de *GLUTs* funcionais na membrana plasmática. Isso significa que a captação de glicose pode ser regulada pelo tráfego de *GLUT* entre o citosol e a membrana plasmática. Esse tipo de regulação ocorre em escala de tempo relativamente curto (dentro de 1 h) e representa um mecanismo relativamente rápido, permitindo as células lidarem com o estresse metabólico (Liemburg-Apers et al, 2015). A atividade intrínseca dos *GLUTs* pode ser modulada por mudanças conformacionais ou modificações pós-traducionais que aumentam a afinidade da glicose (Asano et al., 1991; Levine et al., 2002). Além disso, a taxa máxima de captação celular de glicose pode ser modulada pela ativação ou desativação de *GLUTs* na membrana plasmática (Liemburg-Apers et al, 2015).

Foi demonstrado também que o estresse oxidativo leve induzido pela glicose e/ou glicose oxidase ou xantina/xantina oxidase, regula positivamente a expressão de *GLUT1* aumentando a taxa de transcrição e a estabilidade do mRNA, levando ao aumento da atividade do transporte de proteína e glicose do tipo *GLUT1* (Kozlovsky et al. 1997). Segundo Liemburg-Apers et al., (2015), sob certas condições (ou seja, diferenciação), as células (co)expressam *GLUT1* e outros *GLUTs* para facilitar o aumento da captação de glicose e apoiar o aumento da respiração celular.

Do ponto de vista da produção animal, estudos apontam que a maior expressão do gene *GLUT1* está correlacionado com o aumento da digestibilidade dos nutrientes, maior metabolismo de carboidratos e maior absorção de glicose pelas células, que por sua vez têm maiores quantidades de glicose metabolizada, levando a maior competência de desenvolvimento desses indivíduos (Lopes et al., 2007; Reichardt et al., 2012, Zhang et al., 2013, Heim et al., 2014).

Krasnov et al. (1999) com o objetivo de examinar o potencial de transferência de genes (humanos) para aumentar o metabolismo dos carboidratos pelos peixes, mostraram que nas células transformadas (com *GLUT1* humano) a taxa de absorção de glicose

aumentou 30 a 80 vezes, concluindo que peixes transgênicos superexpressos do *GLUT1* humano têm aumento na absorção e no metabolismo de glicose.

Outros estudos relatam similaridade estrutural e funcional das proteínas transportadoras de glicose (*GLUTs*) entre os peixes e outros vertebrados (Collie & Ferraris, 1995, Planas et al., 2000, Teerijoki et al., 2001, Díaz et al., 2007, Polakof et al., 2007 e Díaz et al., 2009), o *GLUT1* especificamente tem 80-97% de semelhança (Li et al., 2018). Neste contexto, levando em consideração que os peixes onívoros podem suportar níveis mais altos de carboidratos na dieta (Hemre et al., 1993, Shikata et al., 1993, Shimeno et al., 1993, Jantrarotai et al. 1998, Deng et al., 2000) e que a maioria das espécies de teleósteos apresentam "resistência à glicose" e as funções primárias de altas concentrações plasmáticas de insulina estão relacionadas ao crescimento e focadas no metabolismo de aminoácidos (Mommsen et al., 1991). Isso implica dizer, que a seleção de peixes com maior expressão para o gene *GLUT1* pode contribuir para a seleção de animais mais eficientes quanto ao melhor metabolismo de glicose.

## LITERATURAS CITADAS

- Amabis, J. M. & Martho, G. R. (2006). Fundamentos da Biologia Moderna: Volume único. 4ª Ed. Editora Moderna: São Paulo, 839 p.
- Asano T, Katagiri H, Takata K et al. (1991). The role of N-glycosylation of GLUT1 for glucose transport activity. *J Biol Chem* 266(36):24632–24636.
- Barbieri, E. & Bondioli, A. C. V. (2015). Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. *Aquaculture Research*. 46(3):565-571.
- Barreto, R. E. & Volpato, G. L. (2006). Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39: 1605-1612.
- Barton, B.A. (1988). Endocrine and metabolic responses of fish to stress. *Int. Assoc. Aquat. Anim. Med. Proc.* 19: 41-55.
- Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, 142, 524-526.
- Carmichael, G.J., J.R. Tomasso, B.A. Simco, and K.B. Davis. (1984). Characterization and alleviation of stress associated with hauling largemouth bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113:778-785.
- Carruthers A, DeZutter J, Ganguly A, Devaskar SU. (2009). Will the original glucose transporter isoform please stand up! *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297(4): E836–E848. doi:10.1152/ajpendo.00496.
- Carvalho Filho, J. (1995). Editorial. *Panorama da Aquicultura*, v. 5, n. 27, p. 3.
- Chagas, E. C., Gomes, L. D. C., Martins Júnior, H., and Roubach, R. (2007). Tambaqui productivity reared in cages with different feeding rations. *Ciência Rural*, 37(4), 1109-1115.
- Collie, N.L., Ferraris, R.P. (1995). Nutrient fluxes and regulation in fish intestine, in: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), *Metabolic Biochemistry*. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. 4, 221-239.
- Conde-Sieira, M., Soengas, J. L., and Valente, L. M. (2015). Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo- and hyper-glycaemia. *Aquaculture*, 438, 59-67.
- Correa, L., Pimentel, L., Cerqueira, R., & Chemim, D. (2006) Stress in fishes. *ev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.113-117.
- Crosseti, D.; Sola, L; Brunner, P. 1988. Cytogenetical characterization of *Oreochromis niloticus*, *O. Mossambicus* and their hybrid. In: *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 2, 1988, Bangkok. *Proceedings...*, Manila: ICLARM. p. 143-15.

- Davis, K. B. & Peterson, B. C. (2006). The effect of temperature, stress, and cortisol on plasma IGF-I and IGF-BPs in sunshine bass. *General and Comparative Endocrinology*, 149: 219–225.
- Deng, D.F., Refstie, S., Hemre, G.I., Crocker, C.E., Chen, H.Y., Cech, J.J. & Hung, S.S.O. (2000) A new technique of feeding, repeated sampling of blood and continuous collection of urine in white sturgeon. *Fish Physiol. Biochem.*, 22, 191–197.
- Deriggi, G. F., Inoue, L. A. K. A., and Moraes, G. (2006). Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(3), 269-274.
- Díaz, M., Antonescu, C. N., Capilla, E., Klip, A., & Planas, J. V. (2007). Fish glucose transporter (GLUT)-4 differs from rat GLUT4 in its traffic characteristics but can translocate to the cell surface in response to insulin in skeletal muscle cells. *Endocrinology*, 148(11), 5248-5257.
- Díaz, M., Vraskou, Y., Gutiérrez, J., & Planas, J. V. (2009). Expression of rainbow trout glucose transporters GLUT1 and GLUT4 during in vitro muscle cell differentiation and regulation by insulin and IGF-I. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(3), R794-R800.
- EL-Khaldi, A. T. (2010). Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Saudi journal of biological sciences*, 17(3), 241-246.
- Facó, O. et al. (2008). Raça Morada Nova: Origem, Características e Perspectivas. Sobral - CE: Embrapa Caprinos (Embrapa Caprinos. Documentos 75. 43 pag.).
- FAO - Food and Agriculture Organization. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- FAO - Food and Agriculture Organization. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Fevolden, S. E., Refstie, T., & Gjerde, B. (1993). Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 118(3-4), 205-216.
- Freitas, A. C. B., Quirino, C. R., & Bastos, R. (2017). The welfare of sheep: Review. *PUBVET*, 11, 1-102.
- Haskell, M. J., Simm, G., & Turner, S. P. (2014). Genetic selection for temperament traits in dairy and beef cattle. *Frontiers in genetics*, 5, 368.
- Heim, G., Walsh, A. M., Sweeney, T., Doyle, D. N., O'shea, C. J., Ryan, M. T., & O'doherty, J. V. (2014). Effect of seaweed-derived laminarin and fucoidan and zinc oxide on gut morphology, nutrient transporters, nutrient digestibility, growth

- performance and selected microbial populations in weaned pigs. *British Journal of Nutrition*, 111(9), 1577-1585.
- Hemre, G.I., Lie, Ø. & Sundby, A. (1993). Dietary carbohydrate utilisation in cod (*Gadus morhua*): metabolic responses to feeding and fasting. *Fish Physiol. Biochem.*, 10, 455– 463.
- Jantrarotai, W., Sitasit, P., Jantrarotai, P., Viputhanumas, T. & Srabua, P. (1998). Protein and energy levels for maximum growth, diet utilization, yield of edible flesh and protein sparing of hybrid *Clarias catfish* (*Clarias macrocephalus* x *Claria gariepinus*). *J. World Aquacult. Soc.*, 29, 281– 289.
- Joost HG, Thorens B. (2001). The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Membr Biol* 18(4):247–256.
- Kozlovsky N, Rudich A, Potashnik R, Ebina Y, Murakami T, Bashan N. (1997). Transcriptional activation of the *Glut1* gene in response to oxidative stress in L6 myotubes. *J Biol Chem* 272(52):33367–33372.
- Krasnov, A., Pitkänen, T. I., Reinisalo, M., & Mölsä, H. (1999). Expression of human glucose transporter type 1 and rat hexokinase type II complementary DNAs in rainbow trout embryos: effects on glucose metabolism. *Marine biotechnology*, 1(1), 25-32.
- Levine KB, Cloherty EK, Hamill S, Carruthers A. (2002). Molecular determinants of sugar transport regulation by ATP. *Biochemistry* 41(42):12629–12638.
- Li, R., Liu, H., Dong, X., Chi, S., Yang, Q., Zhang, S., & Tan, B. (2018). Molecular characterization and expression analysis of glucose transporter 1 and hepatic glycolytic enzymes activities from herbivorous fish *Ctenopharyngodon idellus* in respond to a glucose load after the adaptation to dietary carbohydrate levels. *Aquaculture*, 492, 290-299.
- Liemburg-Apers, D. C., Willems, P. H., Koopman, W. J., & Grefte, S. (2015). Interactions between mitochondrial reactive oxygen species and cellular glucose metabolism. *Archives of Toxicology*, 89(8), 1209-1226.
- Lima, U. M. (2003). Tilápias. Disponível em <<https://www.zemoleza.com.br/trabalho-academico/biologicas/biologia/tilapia/>> Acessado em: abr. de 2019.
- Lôbo, A. M. B. O. et al. (2009). Genetic parameters for growth, reproductive and maternal traits in a multibreed meat sheep population. *Genetics and Molecular Biology*. V. 32, n. 4, p. 761-770.
- Lopes A. S. et al. (2007). Respiration rates correlate with mRNA expression of *G6PD* and *GLUT1* genes in individual bovine in vitro produced blastocysts. *Theriogenology* 68:223–36.

- Love, R.M. (1980). The chemical biology of fishes, vol. 2: advances 1968-1977. Academic Press, London, U.K.
- Mazeaud, M.M., F. Mazeaud, and E.M. Donaldson. (1977). Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Trans. Am. Fish. Soc.* 106:201-212.
- Mendes, J. M., Inoue, L. A. K. A., and Jesus, R. S. (2015). Influence of transport stress and slaughter method on rigor mortis of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(2), 162-169.
- Miller, L. L., Wang, F., Palace, V. P. & Hontela, A. (2007). Effects of acute and sub chronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 83: 263-271.
- Moberg, G.P. (1985). Biological response to stress: Key to assessment of well-being? In: Moberg, G.P. (ed.). *Animal stress*. American Physiological Society, Bethesda, MD, pp. 27-49.
- Mommsen, T.P. & Plisetskaya, E.M. (1991). Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.*, 4, 225–259.
- Montalván, Z. C. R. (2013). Estimativas de parâmetros genéticos de características reprodutivas de ovinos Santa Inês utilizando inferência bayesiana. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, Sergipe.
- Moon T. W. (2001). Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 129:243–249.
- Moreira, A. G. L., Teixeira, E. G., Moreira, R. L., and Farias, W. R. L. (2011). Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(3).
- OIE. (2014). World Organization for Animal Health. World Health Organization.
- Okamura, D., Araújo, F. G., Logato, P. V. R., Murgas, L. D. S., Freitas, R. T. F., and Araújo, R. V. (2007). Effect of vitamin C over the haematocrit and glycemia of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) alevins in simulated transport. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(4), 883-888.
- Oliveira, E. G., Santos, F. D. S., Pereira, A. M. L., & Lima, C. B. (2007). Produção de tilápia: mercado, espécie, biologia e recria. Embrapa Meio-Norte-Circular Técnica (INFOTECA-E).
- Paranhos da costa, M.J.R. (2000). Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. *Anais de Etologia*. 18: 26-42.

- Pedrazzani, A. S., Molento, C. F. M., Carneiro, P. C. F., & Castilho, M. D. (2007). Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. *Panorama da Aqüicultura*, 102, 24-29.
- Pedrazzani, A. S., Neto, A. O., Carneiro, P. C. F., Gayer, M. V., & Molento, C. F. M. (2008). Opinião pública e educação sobre abate humanitário de peixes no município de Araucária, Paraná. *Ciência Animal Brasileira*, 9(4), 976-996.
- PeixeBR - Associação Brasileira da Piscicultura - Anuário Peixe BR da Piscicultura. (2020). Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2019/>> Acesso em: Abr. de 2019.
- Pereira, J. C. C. (2012). *Melhoramento genético aplicado à produção animal*. 5 ed. ed. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG.
- Planas, J. V., Capilla, E., & Gutiérrez, J. (2000). Molecular identification of a glucose transporter from fish muscle. *FEBS letters*, 481(3), 266-270.
- Polakof, S., Míguez, J. M., Moon, T. W., & Soengas, J. L. (2007). Evidence for the presence of a glucosensor in hypothalamus, hindbrain, and Brockmann bodies of rainbow trout. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(4), R1657-R1666.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., and Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(8), 1015-1045.
- Popma, T. J.; Lovshin, L. L. *Tilápia especial*. *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 27, p. 7-13, 1995.
- Reichardt, S. D. et al. (2012). Glucocorticoids enhance intestinal glucose uptake via the dimerized glucocorticoid receptor in enterocytes. *Endocrinology*, v. 153, n. 4, p. 1783-1794.
- Ribeiro, R. P & Vargas, L. (2011). Melhoramento genético de peixes: a experiência com a tilápia GIFT em Maringá. *Rev. Conselho Regional de Medicina Veterinária CRMV-PR*, 102.
- Shikata, T., Kheyyali D. & Shimeno, S. (1993). Regulation of carbohydrate metabolism in fish. XV. Effect of feeding rates on hepatopancreas enzymes and body composition in common carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 59, 835– 839.
- Shimeno, S., Duan-Cun-Ming & Takeda, M. (1993). Regulation of carbohydrate metabolism in fish XVI. Metabolic response to dietary carbohydrate to lipid ratios in *Oreochromis niloticus*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 59, 827– 833.
- Silva, R. D.; Rocha, L. O.; Fortes, B. D. A. (2012). Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesq. Vet. Bras.* 32(Supl.1):99-107.

- Simões L.N. & Gomes L.C. (2009). Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 61:613-620.
- Tanck, M. W., Vermeulen, K. J., Bovenhuis, H., & Komen, H. (2001). Heredity of stress-related cortisol response in androgenetic common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture, 199(3-4), 283-294.
- Tavares-Dias, M., & Sandrim, E. F. S. (1998). Características hematológicas de teleósteos brasileiros. I. Série vermelha e dosagens de cortisol e glicose do plasma sanguíneo de espécimes de *Colossoma macropomum* em condições de cultivo. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 20, 157-160.
- Teerijoki, H., Krasnov, A., Pitkänen, T. I., & Mölsä, H. (2001). Monosaccharide uptake in common carp (*Cyprinus carpio*) EPC cells is mediated by a facilitative glucose carrier. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 128(3), 483-491.
- Voet, D., & Voet, J. G. (2006). Bioquímica. Médica Panamericana. Ed 3ª, 1776p. ISBN-950-06-2301-3.
- Wedemeyer GA, Barton B, Mc Leay D. (1990). Stress and acclimation. In: Schreck C, Moyle P. (Ed.). Methods for fish biology. Bethesda, MD: American Fisheries Society, p. 451-489.
- Wedemeyer, G.A., and D.J. McLeay. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. pp. 247-275 in A.D. Pickering, ed. Stress and fish. Academic Press, London, U.K.
- Wedemeyer, G.A., D.J. McLeay, and C.P. Goodyear. (1984). Assessing the tolerance of fish and fish populations to environmental stress: the problem and methods of monitoring. pp. 163-195 in V.W. Cairns, P.V. Hodson, and J.O. Nriagu, eds. Contaminant effects on fisheries. John Wiley and Sons, New York, NY.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. Physiological reviews, 77(3), 591-625.
- Zhang, W., Summers, L. H., Siegel, P. B., Cline, M. A., & Gilbert, E. R. (2013). Quantity of glucose transporter and appetite-associated factor mRNA in various tissues after insulin injection in chickens selected for low or high body weight. Physiological genomics, 45(22), 1084-1094.



## II. OBJETIVO GERAL

Pode-se melhorar o bem-estar da Tilápia do Nilo por meio de seleção genética?

## III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os níveis séricos de glicose em diferentes tempos de jejum;
- Estimar as herdabilidades e demais parâmetros genéticos das características produtivas e adaptativas de peixes cultivados em tanques-rede;  
Verificar a expressão dos genes Catalase (*CAT*) e Glucose Transporte 1 (*GLUT1*) nos grupos com alto e baixo valor genético para nível de glicose;
- Quantificar os benefícios da seleção para nível de glicose, através da resposta ao estresse em Tilápia do Nilo;
- Iniciar o processo de desenvolvimento de uma variedade de Tilápia do Nilo mais adaptada às condições de cultivo em tanques-rede;
- Desenvolver uma metodologia de avaliação genética para o bem-estar em Tilápia do Nilo por meio de níveis séricos de glicose.

#### IV. Comportamento glicêmico em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

##### Resumo

O conhecimento do comportamento da glicemia em peixes, é muito importante para subsidiar pesquisas relacionadas com a utilização dessa variável, na seleção de características ligadas ao bem-estar em peixes. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi identificar o período correto de jejum e o momento ideal (colheita do sangue) para a estimação acurada dos níveis séricos de glicose em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). O estudo foi realizado em dois experimentos associados. O primeiro experimento avaliou o comportamento dos níveis séricos de glicose em diferentes períodos de jejum. O segundo experimento avaliou o comportamento da glicemia em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo. Os resultados do experimento 1 apontaram para o aumento da glicemia na primeira hora (média de 52mg/dL), com pico máximo seis horas após a alimentação (média de 53mg/dL). Com base na análise de regressão segmentada do experimento 1 foi possível observar o comportamento e identificar o intervalo de jejum ideal para a avaliação da glicemia (das 12 às 20 horas). Tomando esse intervalo de jejum para a avaliação da glicose (experimento 1) foi observado menor baixa variação e maior estabilidade dos níveis glicêmicos nos vários momentos de averiguação (experimento 2). Pode-se concluir, que o melhor momento para a estimação da glicose, visando a utilização dessa variável como indicativo de situações ou com vistas na utilização desta medida na seleção de características ligadas ao bem-estar em Tilápia do Nilo, é entre às 12 e 20 horas de jejum.

**Palavras-chave:** bem-estar animal, colheita de sangue, estresse, jejum em peixe, PMGT/UEM

## **Abstract**

The knowledge of glycemia behavior in fish is very important to support research related to the use of this variable, in the selection of characteristics related to fish welfare. In this sense, the objective of the work was to identify the correct fasting period and the ideal time (blood collection) for the accurate estimation of serum glucose levels in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). The study was carried out in two associated experiments. The first experiment evaluated the behavior of serum glucose levels in different periods of fasting. The second experiment evaluated the behavior of blood glucose at various times of blood collection within a fixed fasting interval. The results of experiment 1 pointed to an increase in blood glucose in the first hour (average of 52mg/dL), with a maximum peak at six hours after feeding (average of 53mg/dL). Based on the segmented regression analysis of experiment 1, it was possible to observe the behavior and to identify the ideal fasting interval for the assessment of blood glucose (from 12 to 20 hours). Taking this fasting interval for glucose assessment (experiment 1), less low variation and greater stability of glyceimic levels were observed in the various moments of investigation (experiment 2). It can be concluded that the best time to estimate glucose, aiming at using this variable as an indication of situations or as a measure in the selection of characteristics related to well-being in Nile Tilapia, is between 12 and 20 hours of fasting.

**Keywords:** animal welfare, blood collection, stress, fasting on fish, PMGT/UEM

## **Introdução**

O aumento da demanda por alimento e a exigência de produzir mais utilizando a mesma área fez com que os sistemas de produção se tornassem cada vez mais intensivos. Nesse sentido, a aquicultura nos últimos anos vem passando por um rápido processo de modernização e intensificação, tornando o setor cada vez mais produtivo.

As Tilápias, por apresentarem características de robustez se adaptaram bem a esse rápido processo de modernização e intensificação, tornam-se uma das espécies mais produzida do mundo. Segundo dados da PeixeBR (2020) em 2019 o Brasil produziu aproximadamente 432.149 mil toneladas de Tilápias, representando 57% da produção piscícola nacional, mantendo o país como o quarto maior produtor de Tilápias do mundo.

Alguns autores relatam que maiores investimentos e pesquisas em melhoramento genético, nutrição, manejo reprodutivo e sanitário, poderiam contribuir para o aumento da produção do setor (Fevolden et al., 1993, EL-Khaldi, 2010, Goes, et al., 2019). Entretanto, além desses importantes investimentos, considerando que as boas práticas de manejo nas quais se respeite a integridade do animal, o hábito, o ambiente psicológico, a biologia e fisiologia e os níveis de estresse devem ser também estimados, já que podem auxiliar e adaptar sistemas de produção e desta forma, obter melhores resultados produtivos e econômicos.

Neste contexto, o desenvolvimento de pesquisas em busca da seleção de animais mais acondicionados aos sistemas de cultivos e seus manejos, pode contribuir para a preservação de todas as premissas do bem-estar animal (que os animais estejam livres de sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, angústia e estresse), além de garantir a consolidação do setor tornando-o cada vez mais sustentável e suprindo as exigências do moderno mercado consumidor que objetiva a qualidade do produto e a moralidade e respeito aos animais de produção (Barton, 1988, Barton e Iwama, 1991, EL-Khaldi, 2010).

As variáveis hematológicas são ferramentas de grande importância no diagnóstico de situação em peixes (Barbieri e Bondioli, 2013). A glicose pelo baixo custo e fácil mensuração se apresenta como o principal parâmetro nas pesquisas ligadas ao estresse, nutrição e sanidade, quando comparada a outros parâmetros sanguíneos em peixes, como cortisol, lactato, hematócrito e linfócitos circulantes (Love, 1980, Silva et al., 2012, EL-Khaldi, 2010, Conde-Sieira et al., 2015).

Contudo, nada se sabe a respeito do período correto de jejum e a identificação do momento ideal da colheita do sangue para a averiguação da glicose em *O. niloticus* sendo essenciais para esses estudos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi identificar o período correto de jejum e o momento ideal de colheita do sangue para a estimação acurada dos níveis séricos de glicose em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

## Metodologia

Todos os procedimentos de manejo dos animais e procedimentos utilizados nas coletas dos dados obedeceram às normas éticas e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 16/04/2018, protocolo – CEUA: 9164040418. O estudo foi realizado em dois experimentos associados:

### *Experimento 1: comportamento glicêmico em diferentes períodos de jejum*

O experimento foi desenvolvido na unidade demonstrativa de produção em tanques-rede da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no Rio do Corvo, reservatório de Rosana, localizado no município de Diamante do Norte – PR (22° 39' 24" S 52° 46' 51" O).

Os animais avaliados são da variedade TILAMAX desenvolvida no programa de melhoramento genético de Tilápia do Nilo da UEM (PMGT – Tilamax/UEM). O programa teve início com a importação de animais da variedade GIFT da Malásia, no ano 2005, fruto de uma parceria entre a World Fish Center e a UEM (Oliveira et al., 2016) e desde então realiza avaliações genéticas anuais e seleção para velocidade de crescimento de animais cultivados em tanques-rede.

Em 12 tanques-rede de 1m<sup>3</sup> (1x1x1) foram alocados 24 peixes sendo 12 machos (peso final médio 649,31g) e 12 fêmeas (peso médio final 504,64g). Durante o experimento os animais receberam ração balanceada contendo 36% e 32% de Proteína Bruta (PB) na fase de crescimento e na fase de engorda respectivamente, fornecidas de acordo com a exigência e fase da espécie. A qualidade da água foi avaliada diariamente, durante todo o experimento, duas vezes ao dia (08 e 17h), sendo monitorado o oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55 dissolved oxygen), temperatura da água e do ambiente (termômetro analógico Incoterm) e pH (método colorimétrico da PoolTest).

Após um período de 4 meses recebendo alimentação normalmente, os animais de cada tanque-rede foram submetidos a um único período de jejum distinto para a avaliação da glicose, totalizando 12 diferentes períodos de jejum (00h, 0.50h, 01h, 02h, 04h, 06h, 08h, 10h, 12h, 16h, 20h e 24h).

De cada tanque-rede foram avaliados 6 animais (3 machos e 3 fêmeas) total de 72 peixes, da mesma idade. A colheita da amostra de sangue (2mL) foi realizada por meio

de punção caudal com a utilização de seringas de 3mL e agulhas 25x0,8, previamente esterilizadas.

Após a coleta dos dados, os animais foram colocados em recipiente com água e imediatamente conduzidos para um outro tanque-rede e foram monitorados por uma semana para averiguar ocorrência de mortalidade e/ou desenvolvimento de infecções.

As características avaliadas foram níveis de glicose sanguínea (GL em mg/dL), peso vivo (PV em g), comprimento total (CT em cm), comprimento padrão (CP em cm) e fator de condição ( $FC = PV/CT^3 \times 100$ ). Foram medidos também com o auxílio de um cronômetro o tempo de captura em min (TCAP – tempo que levava para capturar os peixes no tanque-rede), tempo de espera em min (TE – tempo que os peixes esperavam no recipiente com aeração até a colheita do sangue) e tempo de colheita em min (TC – tempo que levava para a colheita do sangue). O modelo estatístico considerou os efeitos de sexos (macho e fêmea), períodos de jejum e o efeito aninhado de animal dentro de tanque-rede.

O nível de glicose no sangue foi determinado mediante o uso de um glicosímetro portátil (Accu-Chek® Active – Roche Diagnóstica Brasil Ltda) conforme Okamura et al. (2007) e Moreira et al. (2011). O peso vivo foi mensurado usando balança eletrônica (modelo 9094 – Toledo). As informações morfométricas foram coletadas usando um ictiometro.

Foi verificada a normalidade dos resíduos a 5% (Shapiro & Wilk, 1965). Em seguida, foi realizada análise de variância (ANOVA) e quando significativas (teste-F, a 5%) as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%, utilizando o pacote ExpDes.pt. (Ferreira et al., 2018). O fator de condição foi estimado pelo método de Fulton (Valentim-Zabott et al. 2008). A regressão segmentada foi realizada utilizando o pacote segmented (Muggeo, 2008). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico R® Development Core Team (2020).

***Experimento 2: comportamento glicêmico em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo***

O desenvolvimento do experimento foi realizado na unidade demonstrativa de produção em tanques-rede da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no Rio do Corvo, reservatório de Rosana, localizado no município de Diamante do Norte – PR (22° 39' 24" S 52° 46' 51" O).

Os animais avaliados pertencem ao programa de melhoramento genético de tilápia do Nilo da UEM (PMGT – Tilamax/UEM). O manejo nutricional iniciou com a ração balanceada contendo 36% e 32% de Proteína Bruta (PB) na fase de crescimento e na fase de engorda respectivamente, fornecidas de acordo com a exigência e fase da espécie. A qualidade da água foi avaliada duas vezes ao dia (08 e 17h) durante todo experimento, sendo monitorado o oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55 dissolved oxygen), temperatura da água e do ambiente (termômetro analógico Incoterm) e pH (método colorimétrico da PoolTest).

Para a avaliação da glicose em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo foi utilizado dois tanques-rede de 6m<sup>3</sup> (2x2x1.5) com 100 peixes cada (50 machos e 50 fêmeas) totalizando 200 animais avaliados. Vale ressaltar, que o intervalo fixo de jejum utilizado teve como base os resultados do experimento 1.

A avaliação da glicose foi realizada em dois momentos distintos na parte da manhã e na parte da tarde. Em cada momento o tanque-rede foi retirado da linha de produção e levado para o local de manejo, em que permanecia até o fim da coleta das informações. No primeiro momento (manhã) a avaliação da glicose ocorreu as 08h, 09h, 10h, 11h e 12h, no segundo momento (tarde) a glicose foi avaliada as 14h, 15h, 16h, 17h e 18h. Em cada horário de ambos os momentos (manhã ou tarde) foram utilizados 20 peixes entre machos e fêmeas. No intervalo de cada horário de avaliação da glicose, a cada 5 minutos, era simulada a captura dos peixes com a utilização de um puçá, este procedimento imitava o que ocorre nos manejos de rotina (biometrias).

As características avaliadas foram níveis de glicose (GL) e peso vivo (PV). O nível de glicose no sangue foi determinado mediante o uso do glicosímetro portátil (Accu-Chek® Active – Roche Diagnóstica Brasil Ltda) conforme Okamura et al. (2007) e Moreira et al. (2011). O peso vivo foi mensurado com o uso da balança eletrônica (modelo 9094 – Toledo).

Antes da realização das análises estatísticas foi verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk a 5%. A análise de variância (ANOVA) foi realizada e quando significativas (teste-F, a 5%) as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%, utilizando o pacote ExpDes.pt. (Ferreira et al., 2018). A regressão segmentada foi calculada por meio dos valores de glicose em relação tempo de colheita utilizando o pacote Segmented (Muggeo, 2008). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico R® Development Core Team (2020).



## Resultados

Foi observado pequena variação dos parâmetros de qualidade de água coletados em ambos os experimentos (Tabela 1).

**Tabela 1** – Parâmetros de qualidade de água dos experimentos.

Experimentos	Turno	OD (mg/L)	Ph	Temp. água	Temp. Am.
1	Manhã	6,40	6,8	29,20°C	29,50°C
	Tarde	7,20	6,8	30°C	31°C
2	Manhã	6,50	6,8	27,19°C	28,41°C
	Tarde	7,25	6,8	29,66°C	30,01°C

OD= oxigênio dissolvido e; Temp. água e Temp. Am.= temperatura da água e do ambiente, respectivamente.

### *Experimento 1: comportamento glicêmico em diferentes períodos de jejum*

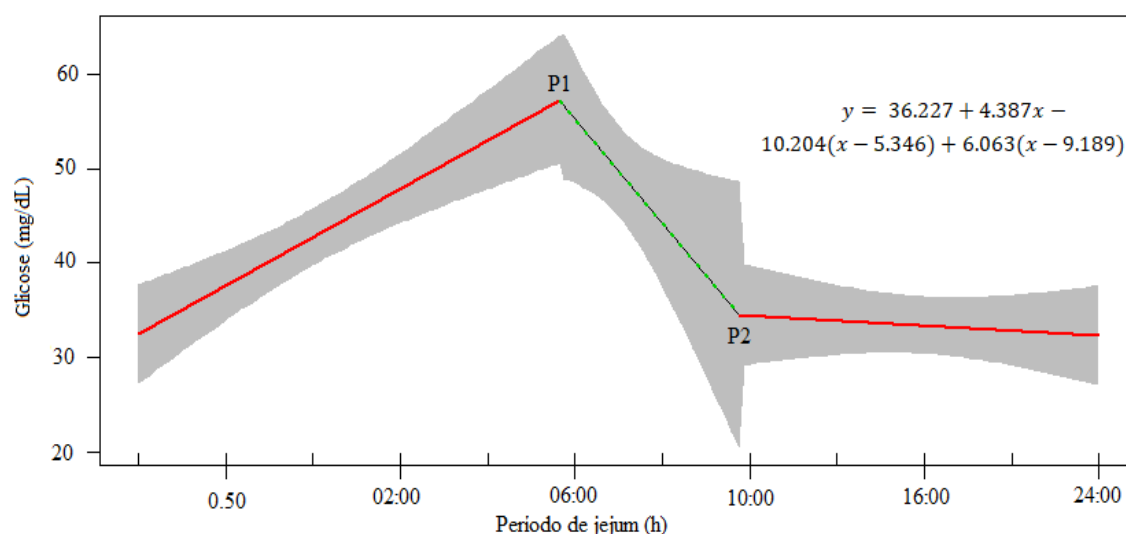
Os valores relacionados às características produtivas (peso, comprimento total e comprimento padrão) foram estatisticamente superiores nos machos em comparação com as fêmeas (Tabela 2). No entanto, o tempo de colheita sanguínea foi maior nas fêmeas (Tabela 2).

**Tabela 2** – Estatística descritiva e teste de médias do nível sérico de glicose, peso, comprimento total, comprimento padrão, fator de condição, tempo de espera e tempo de colheita em relação ao sexo em Tilápia do Nilo.

Característica	Sexo	Média <sup>±DP</sup>	Mínimo	Máximo
Glicose – mg/dL	Macho	37,94 <sup>±10,61a</sup>	14,00	60,00
	Fêmea	38,94 <sup>±12,13a</sup>	19,00	64,00
Peso – g	Macho	649,31 <sup>±132,39a</sup>	314,00	835,00
	Fêmea	504,64 <sup>±94,94b</sup>	285,00	684,00
Comprimento total – cm	Macho	31,50 <sup>±2,02a</sup>	26,00	34,50
	Fêmea	29,01 <sup>±1,82b</sup>	25,00	33,50
Comprimento padrão – cm	Macho	26,01 <sup>±1,75a</sup>	21,50	29,00
	Fêmea	24,33 <sup>±1,54b</sup>	21,00	27,80
Fator de condição	Macho	2,05 <sup>±0,20a</sup>	1,77	2,68
	Fêmea	2,05 <sup>±0,19a</sup>	1,71	2,51
Tempo de espera – min	Macho	1,19 <sup>±0,91a</sup>	0,00	4,00
	Fêmea	1,28 <sup>±1,17a</sup>	0,00	5,00
Tempo de colheita – min	Macho	0,24 <sup>±0,13b</sup>	0,05	0,81
	Fêmea	0,30 <sup>±0,10a</sup>	0,13	0,60

DP= desvio-padrão. Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste F.

Os resultados da regressão segmentada apontaram que de zero a seis horas após o fornecimento de alimento, a glicose teve incremento de 4.387mg/dL por hora, com o primeiro break-point ocorrendo as 5.346h. A partir deste momento, a glicose apresentou decréscimo de 10.208 mg/dL por hora até próximo das 09h, quando ocorreu segundo break-point (P2= 9.189h). A partir deste ponto os níveis de glicose tendem a estabilizar por volta das 10h, sendo das 12 às 20h o tempo de jejum com menor variação da glicemia (Figura 1).



**Figura 1** – Modelo de regressão segmentada na avaliação da glicemia em relação ao período de jejum em Tilápia do Nilo.

**Experimento 2:** *Comportamento glicêmico em vários horários de colheita sanguínea dentro de um intervalo de jejum fixo*

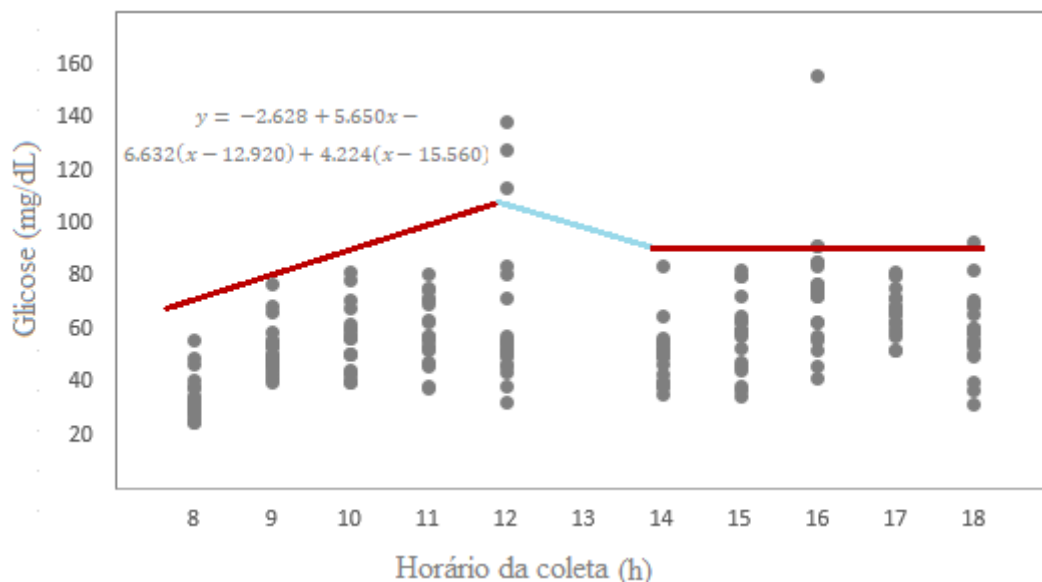
Verificou-se diferenças significativas entre as médias de machos e fêmeas para a característica peso pelo teste F ao nível de 5% de significância, porém essa diferença não influenciou nos valores de glicose (Tabela 3).

**Tabela 3** – Estatística descritiva e teste de médias do nível sérico de glicose e peso em relação ao sexo em tilápia do Nilo.

Característica	Sexo	Média±DP	Mínimo	Máximo
Glicose – mg/dL	Macho	51.83±15.74 <sup>a</sup>	26.00	128.00
	Fêmea	62.31±19.61 <sup>a</sup>	25.00	156.00
Peso – g	Macho	1131.18±187.94 <sup>a</sup>	649.00	1530.00
	Fêmea	804.06±143.80 <sup>b</sup>	480.00	1238.00

DP= desvio-padrão. Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste F.

Na Figura 2 foi descrito o comportamento da glicemia em função dos horários de coleta. Observou-se alterações nos vários momentos da colheita sanguínea, contudo com mudanças na inclinação da função linear “Break-Points” de pequena magnitude (12.920 e 15.560), apontando possível estabilidade nos valores glicêmicos.



**Figura 2** – Comportamento da glicemia em tilápia do Nilo submetidas ao período de jejum de 12 a 21 horas.

## Discussão

Os resultados desta pesquisa são inéditos (*Oreochromis niloticus*) e de grande importância para auxiliar o desenvolvimento de uma linhagem de Tilápia do Nilo mais condicionada aos sistemas de cultivos e manejos de rotina, pois são inexistentes os estudos referentes a esse tema em Tilápia do Nilo.

Os parâmetros de qualidade de água em ambos os experimentos se mostraram estáveis entre os experimentos (Tabela 1). Observou-se que os parâmetros avaliados estão dentro dos limites aceitáveis determinados pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005 para águas destinadas à criação natural e intensiva (aquicultura) de organismos aquáticos para o consumo humano.

Os resultados demonstrados nas Tabelas 2 e 3, apontaram que as características peso, comprimento total e comprimento padrão foram maiores nos machos que nas fêmeas, esses resultados estão relacionados ao dimorfismo sexual existente na espécie, pois em tilápia do Nilo os machos são maiores que as fêmeas.

O maior tempo de colheita sanguínea observado em fêmeas (Tabela 2), pode estar relacionado com a estrutura morfológica, pois em termos práticos a colheita de sangue em animais menores tende a ser mais demorada e/ou complicada que em animais maiores. Porém, nenhum destes resultados influenciou na avaliação da glicose em relação ao período de jejum e horário de colheita como se pode observar nas Tabelas 4 e 5 em anexo.

A estimação do comportamento glicêmico em função do tempo de jejum (Figura 1) possibilitou identificar o momento de estabilização da glicemia (10h de jejum), com isso foi possível identificar o período de jejum em que a glicose tem menor oscilação.

Com base nestes resultados o melhor momento para a coleta de informações da glicose sanguínea em Tilápia do Nilo cultivadas em tanques-rede, é entre às 12 e 20 horas de jejum, visto que nesse período se observou maior estabilidade da curva glicêmica (Figura 1), dando ao avaliador maior período para a coleta dos dados, consequentemente, maior precisão na avaliação da glicose. Diante destes resultados, obtém-se a medição pouco dependente do tempo, tornando a avaliação da glicose tomada neste período mais apropriada na avaliação genética e seleção dos animais com base nesses critérios.

Com base nos resultados (Figura 1) foi observado que no momento do fornecimento do alimento e até 30 minutos depois (0.50h), os níveis de glicose são baixos (29 e 30mg/dL respectivamente), estes valores são semelhantes aos relatados por Deriggi, et al., (2006) em Tilápias do Nilo livres de estresse, indicando que os animais avaliados

neste trabalho estavam relaxados durante o cultivo e o metabolismo da dieta ainda não havia iniciado. Segundo a literatura o metabolismo dos nutrientes pelos peixes inicia aproximadamente uma hora após a ingestão (Furuichi e Yone, 1981, Lin et al., 2000, Polakof et al., 2012 e Conde-Sieira et al., 2015). Justificando o aumento significativo do nível sérico de glicose no tempo 01h após a alimentação com pico máximo as 06h (Figura 1).

Estes picos de glicose as 01h e 06h podem estar ligados aos dois grandes processos metabólicos: o anabolismo e o catabolismo. Ou seja, o aumento 01h após a alimentação possivelmente está relacionado ao início do processo de digestão, no qual, o animal ativa seu sistema digestivo, elevando os níveis de glicose. Em seguida, ocorre o processo digestivo propriamente dito (catabolismo), tendo a liberação da energia metabolizada dos nutrientes na corrente sanguínea, justificando o valor máximo de glicose 06h depois da alimentação. E, conseqüentemente, redução às 08h (anabolismo) tendo estabilização próximo das 10h.

Comportamentos glicêmicos semelhantes ao encontrado neste trabalho também foram relatados por Furuichi e Yone (1981), Lin et al. (2000), Polakof et al. (2012) e Conde-Sieira et al. (2015), porém esses autores avaliaram a tolerância e a capacidade homeostática dos peixes por meio de desafios de glicose, visando obter mais informações sobre a capacidade e o limite da utilização de carboidratos na dieta dos animais.

A determinação da estabilização glicêmica decorrente a fatores relacionados à alimentação é fundamental para entender como de fato se pode utilizar os valores glicêmicos na seleção de animais mais condicionados aos sistemas de cultivo, visto que de acordo com Wendelaar Bonga (1997) a glicemia aumenta após um curto período da ocorrência do estresse, sendo assim, a identificação do intervalo no qual a homeostase da glicose é mantida com pequena variação, proporciona estimativa mais acurada dos níveis glicêmicos tornando essa variável mais precisa na identificação de animais mais condicionados ao sistema de produção.

Os resultados descritos nos parágrafos anteriores são suportados pelos resultados observados no segundo experimento, em que foi observado variação de pequena magnitude entre os níveis de glicose nos diferentes horários coleta do experimento mostrando uma constante sem indício de mudanças abruptas no sentido da reta (Figura 2).

Notou-se que no início de cada momento (08h e 14h) têm níveis de glicose mais baixos, em seguida há aumento de apenas 5.650mg/dL das 08 às 12h (Figura 2). As 14h

ocorre uma leve redução (-6.632mg/dL) pela troca do tanque (das 08h às 12h tanque 1 e das 14h às 18h tanque 2), porém às 15h a glicose volta a subir 4.224mg/dL, valor próximo ao início, mostrando durante todo experimento um comportamento glicêmico estável. Isto nos leva a dizer que, o período de jejum determinado no primeiro experimento (das 12 às 20h), apresenta-se como o melhor momento para a avaliação da glicemia e sua utilização como indicador em Tilápia do Nilo.

Os resultados expostos neste trabalho, é o passo inicial para a identificação do melhor momento da avaliação da glicose e da utilização desta mensuração como critério de seleção de animais mais condicionados aos sistemas de cultivos. Aspecto fundamental para o controle e profilaxia de doenças, aumento dos índices produtivos e reprodutivos, além de preservar a integridade dos animais (bem-estar animal) como relatado por Barton (1988), Barton e Iwama (1991) e EL-Khaldi, (2010).

No entanto, é necessário estudos objetivando a estimativa dos componentes de (co)variância e respostas correlacionadas da seleção nível de glicose sobre as características produtivas. Com intuito de avaliar a eficiência do uso deste indicador na seleção de animais mais condicionados aos sistemas de cultivos.

Por ora, pode-se dizer que os resultados expostos neste trabalho, são os primeiros achados que podem auxiliar as mais diversas linhas de pesquisa que intentam avaliar a glicose como indicador de estresse, saúde animal, entre outros. Na literatura científica, os trabalhos têm utilizado o período de jejum de 24h para a avaliação da glicose (Chagas et al., 2007 e Simões e Gomes, 2009), de acordo com nossos achados, nesse período foi observado uma hipoglicemia pelo longo período de jejum.

## **Conclusão**

Pode-se concluir, que o melhor momento para a estimação da glicose, visando a utilização dessa variável como indicativo de situações ou com vistas na utilização desta medida na seleção de características ligadas ao bem-estar em Tilápia do Nilo, é entre às 12 e 20 horas de jejum.

## Referências

- Barbieri, E. and Bondioli, A. C. V. (2013). Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. *Aquaculture Research*. 46(3):565-571,
- Barton, B. A., and Iwama, G. K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of fish diseases*, 1, 3-26.
- Barton, B.A. (1988). Endocrine and metabolic responses of fish to stress. *Int. Assoc. Aquat. Anim. Med. Proc.* 19: 41-55.
- Chagas, E. C., Gomes, L. D. C., Martins Júnior, H., and Roubach, R. (2007). Tambaqui productivity reared in cages with different feeding rations. *Ciência Rural*, 37(4), 1109-1115.
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente, 357/2005. Disponível em: <<http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/resolucoes/resolucao-conama-no-357-de-17-de-marco-de-2005/view>> Acessado em: 29 de Jan. de 2021.
- Conde-Sieira, M., Soengas, J. L., and Valente, L. M. (2015). Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo-and hyper-glycaemia. *Aquaculture*, 438, 59-67.
- Deriggi, G. F., Inoue, L. A. K. A., and Moraes, G. (2006). Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(3), 269-274.
- EL-Khaldi, A. T. (2010). Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Saudi journal of biological sciences*, 17(3), 241-246.
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A., and Ferreira, M. E. B. (2018). Package 'ExpDes. pt'.
- Fevolden, S. E., Refstie, T., & Gjerde, B. (1993). Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 118(3-4), 205-216.
- Furuichi and Yone. (1981). Change of blood sugar and plasma insulin levels of fishes in glucose tolerance test. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47(6), 761-764
- Goes, E. S. D. R., Goes, M. D., Castro, P. L. D., Lara, J. A. F. D., Vital, A. C. P., & Ribeiro, R. P. (2019). Imbalance of the redox system and quality of tilapia fillets subjected to pre-slaughter stress. *PloS one*, 14(1), e0210742.



- Lin, S. C., Liou, C. H., and Shiau, S. Y. (2000). Renal threshold for urinary glucose excretion by tilapia in response to orally administered carbohydrates and injected glucose. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23(2), 127-132.
- Love, R.M. (1980). *The chemical biology of fishes*, vol. 2: advances 1968-1977. Academic Press, London, U.K.
- Moreira, A. G. L., Teixeira, E. G., Moreira, R. L., and Farias, W. R. L. (2011). Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(3).
- Muggeo, V. M. (2008). Segmented: an R package to fit regression models with broken-line relationships. *R news*, 8(1), 20-25.
- Okamura, D., Araújo, F. G., Logato, P. V. R., Murgas, L. D. S., Freitas, R. T. F., and Araújo, R. V. (2007). Effect of vitamin C over the haematocrit and glycemia of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) alevins in simulated transport. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(4), 883-888.
- Oliveira, C. A. L., Ribeiro, R. P., Yoshida, G. M., Kunita, N. M., Rizzato, G. S., de Oliveira, S. N., Santos, A. I. and Nguyen, N. H. (2016). Correlated changes in body shape after five generations of selection to improve growth rate in a breeding program for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Brazil. *Journal of applied genetics*, 57(4), 487-493.
- PeixeBR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - ANUÁRIO Peixe BR da Piscicultura. (2020). Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2020/>> Acesso em: Jan. de 2020.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., and Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(8), 1015-1045.
- R® Development Core Team. *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples), *Biometrika*, 52: 591–611.
- Silva, R. D.; Rocha, L. O.; Fortes, B. D. A. (2012). Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesq. Vet. Bras.* 32(Supl.1):99-107.
- Simões L.N. and Gomes L.C. (2009). Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61:613-620.
- Valentim-Zabott, M., Vargas, L., Ribeiro, R. P. R., Piau, R., Torres, M. B. A., Rönnau, M., and Souza, J. C. (2008). Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology. *Homeopathy*, 97(04), 190-195.

Wendelaar Bonga, S.E. (1997). The stress response in fish. *Physiol.* 77, 591–625.

## Anexos

Observa-se que os valores médios glicêmicos (variando de 24 a 53 mg/dL) e o fator de condição (variando de 1,71 a 2,01) foram as únicas características que diferenciaram estatisticamente em relação aos períodos de jejum (Tabela 4). Nota-se também, a formação de três grupos específicos: com baixos valores no início, aumentando uma hora (01h) depois da alimentação e reduzindo de forma significativa as dez horas (10h) de jejum chegando a estabilizar (Tabela 4).

**Tabela 4** - Estatísticas descritivas e análise de variância dos níveis glicêmicos (GL), peso vivo (PV), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), fator de condição (FC), tempo de espera (TE) e tempo de colheita (TC) em vários intervalos de jejum em Tilápia do Nilo.

CARACTERÍSTICAS							
HJ	GL <sup>±DP</sup>	PV <sup>±DP</sup>	CT <sup>±DP</sup>	CP <sup>±DP</sup>	FC <sup>±DP</sup>	TE <sup>±DP</sup>	TC <sup>±DP</sup>
00h	29,00 <sup>±8,46c</sup>	555,00 <sup>±143,25a</sup>	29,22 <sup>±2,70a</sup>	24,83 <sup>±1,97a</sup>	2,01 <sup>±0,18a</sup>	2,67 <sup>±2,25a</sup>	0,40 <sup>±0,27a</sup>
050h	30,33 <sup>±3,93c</sup>	585,67 <sup>±113,09a</sup>	29,58 <sup>±1,74a</sup>	25,25 <sup>±1,37a</sup>	1,90 <sup>±0,23a</sup>	1,17 <sup>±0,75a</sup>	0,26 <sup>±0,01a</sup>
01h	52,00 <sup>±4,98a</sup>	657,67 <sup>±168,14a</sup>	30,92 <sup>±2,52a</sup>	25,63 <sup>±2,05a</sup>	1,97 <sup>±0,25a</sup>	1,50 <sup>±1,05a</sup>	0,33 <sup>±0,15a</sup>
02h	47,50 <sup>±10,75a</sup>	485,33 <sup>±119,96a</sup>	29,32 <sup>±2,56a</sup>	23,87 <sup>±2,01a</sup>	1,77 <sup>±0,13b</sup>	1,17 <sup>±0,75a</sup>	0,23 <sup>±0,08a</sup>
04h	47,83 <sup>±8,33a</sup>	582,83 <sup>±120,32a</sup>	30,25 <sup>±2,27a</sup>	25,17 <sup>±2,18a</sup>	1,98 <sup>±0,11a</sup>	1,17 <sup>±0,75a</sup>	0,26 <sup>±0,12a</sup>
06h	53,17 <sup>±10,17a</sup>	530,17 <sup>±80,99a</sup>	29,33 <sup>±1,54a</sup>	24,33 <sup>±1,57a</sup>	1,78 <sup>±0,16a</sup>	1,17 <sup>±0,75a</sup>	0,21 <sup>±0,08a</sup>
08h	43,00 <sup>±6,63a</sup>	626,50 <sup>±184,62a</sup>	31,27 <sup>±2,53a</sup>	25,72 <sup>±2,07a</sup>	1,71 <sup>±0,18b</sup>	1,00 <sup>±0,89a</sup>	0,26 <sup>±0,08a</sup>
10h	29,17 <sup>±3,66c</sup>	535,00 <sup>±178,85a</sup>	29,98 <sup>±3,04a</sup>	24,92 <sup>±2,25a</sup>	1,78 <sup>±0,11b</sup>	1,33 <sup>±0,82a</sup>	0,25 <sup>±0,08a</sup>
12h	37,33 <sup>±5,65b</sup>	558,17 <sup>±175,57a</sup>	30,18 <sup>±2,86a</sup>	25,17 <sup>±2,25a</sup>	1,79 <sup>±0,14b</sup>	0,67 <sup>±0,82a</sup>	0,24 <sup>±0,11a</sup>
16h	32,33 <sup>±3,93b</sup>	606,17 <sup>±150,96a</sup>	30,17 <sup>±2,42a</sup>	25,42 <sup>±2,15a</sup>	1,97 <sup>±0,20a</sup>	1,00 <sup>±0,89a</sup>	0,32 <sup>±0,11a</sup>
20h	35,67 <sup>±5,72b</sup>	616,67 <sup>±112,54a</sup>	31,67 <sup>±1,75a</sup>	26,23 <sup>±1,19a</sup>	1,81 <sup>±0,11b</sup>	1,17 <sup>±0,75a</sup>	0,19 <sup>±0,04a</sup>
24h	24,00 <sup>±5,59c</sup>	584,50 <sup>±85,91a</sup>	31,18 <sup>±1,66a</sup>	25,50 <sup>±1,58a</sup>	1,78 <sup>±0,12b</sup>	0,83 <sup>±0,75a</sup>	0,25 <sup>±0,10a</sup>

HJ= hora de jejum; DP= desvio-padrão, Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Os valores da glicose variaram de 25 a 156mg/dL com menores concentrações nas primeiras horas (nos dois momentos), aumentando levemente uma hora (01:00h) depois do início de cada momento (manhã e tarde), porém sempre demonstrando níveis glicêmicos estáveis. Já o peso apresentou valores não significativos nos vários horários de colheita (Tabela 5).

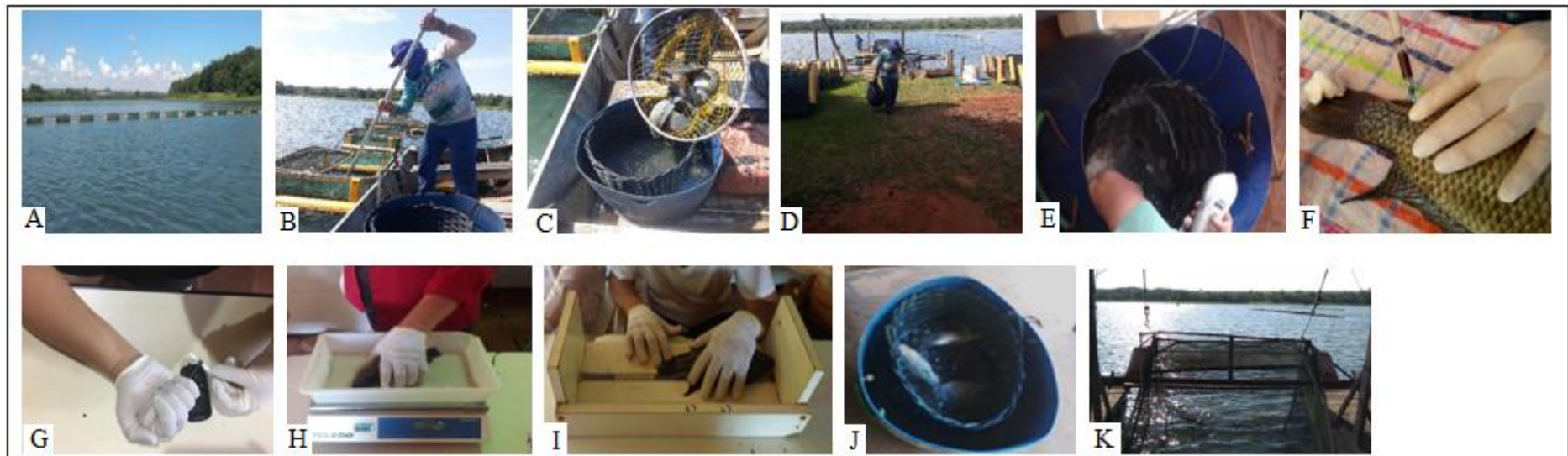
**Tabela 5** – Valores médios, máximos e mínimos níveis glicêmicos e peso em diferentes horários quando submetidos ao período de jejum sugerido pela primeira etapa.

HC	GLICOSE (mg/dL)			PESO (g)		
	<i>Média<sup>±DP</sup></i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Média<sup>±DP</sup></i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
08h	34.45 <sup>±8.18c</sup>	25.00	56.00	1019.20 <sup>±203.24a</sup>	599.00	1382.00
09h	52.55 <sup>±9.20b</sup>	40.00	77.00	939.00 <sup>±233.32a</sup>	593.00	1392.00
10h	55.95 <sup>±12.06b</sup>	40.00	82.00	1017.65 <sup>±255.99a</sup>	656.00	1446.00
11h	58.90 <sup>±12.05b</sup>	38.00	81.00	985.05 <sup>±256.06a</sup>	480.00	1460.00
12h	65.50 <sup>±28.76a</sup>	33.00	139.00	952.65 <sup>±235.18a</sup>	642.00	1381.00
14h	50.75 <sup>±10.52b</sup>	36.00	84.00	977.20 <sup>±222.51a</sup>	611.00	1426.00
15h	58.30 <sup>±13.61b</sup>	35.00	83.00	983.35 <sup>±246.63a</sup>	548.00	1530.00
16h	75.05 <sup>±23.32a</sup>	42.00	156.00	877.10 <sup>±204.96a</sup>	582.00	1305.00
17h	67.15 <sup>±8.34a</sup>	52.00	82.00	854.60 <sup>±165.80a</sup>	578.00	1210.00
18h	59.05 <sup>±14.03b</sup>	32.00	93.00	869.39 <sup>±176.94a</sup>	615.00	1270.00

HC= horário da colheita sanguínea e; DP= desvio-padrão. Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

**Tabela 6** – Cronograma de colheita sanguínea (experimento 1).

<b><u>COLHEITA SANGUÍNEA</u></b>												
<b>Tanques-rede</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>	<b>T10</b>	<b>T11</b>	<b>T12</b>
<b>Ordem da colheita de sangue</b>	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°
<b>Tempo de jejum</b>	Controle	0.50h	16h	01h	02h	04h	20h	06h	08h	24h	10h	12h
<b>Horário da colheita de sangue</b>	08h10	08h30	09h	09h	10h	12h	13h	14h	16h	17h	18h	20h
<b>Última alimentação</b>	08h	08h	17h	08h	08h	08h	17h	08h	08h	17h	08h	08h

**Figura 3** – Procedimentos para a coleta dos dados do experimento 1.

## V. **Pode-se melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de seleção genética?**

### **Resumo**

A preocupação com as condições nas quais os animais de produção são criados e manejados vem sendo discutido em nível mundial, por consumidores, pesquisadores e órgãos que trabalham em prol do bem-estar animal. O desenvolvimento de ferramentas para a seleção de animais que apresentam melhor condicionamento ao cultivo, pode ser uma alternativa para a produção de linhas genéticas mais robustas. Neste sentido, esta pesquisa trata da avaliação do uso da glicose sanguínea como indicador do condicionamento ao ambiente de cultivo em peixes, objetivando responder a seguinte indagação: pode-se melhorar o bem-estar da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de seleção genética? Para isso, foram realizados três experimentos. O primeiro experimento estimou as herdabilidades e medidas de associação entre as características nível de glicose sanguínea (GL) e peso vivo (PV). No segundo experimento, a partir das informações obtidas no experimento 1, foram identificados dois grupos distintos, o primeiro formado por animais com baixo valor genético para GL (EBV Low) e o segundo com animais de alto valor genético para GL (EBV High). Nestes grupos foi verificado a expressão dos genes Catalase (*CAT*) e Glucose transporte 1 (*GLUT1*). No terceiro experimento foi avaliado a resposta ao manejo dos animais dos grupos EBV Low e EBV High. A herdabilidade estimada para GL (0,26) e a correlação genética positiva e favorável entre GL e PV (0,32) indicaram variabilidade genética suficiente para utilização da característica como critério de seleção. As respostas à seleção direta e correlacionada mostraram ganhos genéticos para ambas características. A expressão do gene *CAT* entre os grupos não apresentou diferença. No entanto, o gene *GLUT1* teve maior expressão no grupo EBV High (0,013 UA) em comparação ao grupo EBV Low (0,005 UA). A resposta ao manejo indicou que os animais do grupo EBV High são mais condicionados ao sistema de cultivo apresentando desempenho superior após um manejo estressante. Os resultados descritos permitiram concluir que os animais com maior EBV para os níveis de glicose, apresentaram maior expressão do gene Glucose transporte 1 e desempenho superior nas condições de cultivo após evento estressante que animais com inferior potencial genético para níveis de glicose sérica (EBV low). Indicando que a seleção genética pode ser uma ferramenta para melhorar o bem-estar/condicionamento a condições de cultivo em Tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** avaliação genética, bem-estar animal, condicionamento ambiental, estresse, expressão gênica, melhoramento genético

### **Abstract**

Concern about the conditions in which farm animals are raised and handled has been discussed worldwide, by consumers, researchers and agencies that work to promote animal welfare. The development of tools for the selection of animals that present better conditioning for cultivation, can be an alternative for production of more robust genetic lines. In this sense, this research deals with the evaluation of the use of blood glucose as an indicator of conditioning to the farming environment in fish, aiming to answer the following question: Is it possible to improve the welfare of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) through genetic selection? For this, three experiments were carried out. The first experiment estimated heritability and measures of association between the characteristics of blood glucose level (GL) and live weight (PV). In the second experiment, from the information obtained in experiment 1, two distinct groups were identified, the first formed by animals with low genetic value for GL (EBV Low) and the second with animals of high genetic value for GL (EBV High). In these groups, the expression of the Catalase (CAT) and Glucose transport 1 (GLUT1) genes was verified. In the third experiment, the response to the management of animals in the EBV Low and EBV High groups was evaluated. The estimated heritability for GL (0.26) and the positive and favorable genetic correlation between GL and PV (0.32) indicated sufficient genetic variability to use the trait as a selection criterion. Responses to direct and correlated selection showed genetic gains for both traits. The CAT gene expression between the groups showed no difference. However, the GLUT1 gene had greater expression in the EBV High group (0.013 AU) compared to the EBV Low group (0.005 AU). The response to the management indicated that the animals of EBV High group are more conditioned to the culture system, presenting superior performance after a stressful management. The results described allowed us to conclude that animals with higher EBV for glucose levels, showed higher expression of Glucose transport 1 gene and superior performance in culture conditions after a stressful event than animals with lower genetic potential for serum glucose levels (EBV low). Indicating that genetic selection can be a tool to improve well-being/conditioning to growing conditions in Nile Tilapia.

**Keywords:** genetic evaluation, animal welfare, environmental conditioning, stress, gene expression, genetical enhancement

## 1. Introdução

O preço não é mais o fator determinante para a aquisição dos produtos de origem animal pela sociedade, as exigências em relação ao bem-estar animal nos sistemas de produção têm sido bastante questionadas pelos consumidores (OIE, 2014). Em termos de exportação o cuidado com bem-estar dos animais de produção é fator crucial, fazendo parte da legislação de alguns países como aqueles da Comunidade Comum Europeia (OIE, 2014).

O bem-estar animal está associado com o aumento dos índices produtivos, reprodutivos e controle de doenças (EL-Khaldi, 2010). Animais estressados apresentam baixos índices produtivos, reprodutivos e de sobrevivência (Barton, 2002) e produtos com características organolépticas e tempo de prateleira inferiores aos animais não estressados (Mendes et al., 2015, Goes et al., 2019).

Os principais fatores que interferem no bem-estar de peixes são o metabolismo desequilibrado e as variações ambientais (Barton, 1998, Subramanian, 2013; Zupa et al., 2015). Para Haskell et al. (2014) a seleção de animais visando a redução de reações estressantes no ambiente de cultivo é essencial para garantir o bem-estar animal e a eficiência do sistema de produção. No entanto, são poucos ou quase inexistente os estudos referentes a esse tema em *O. niloticus* cultivadas em sistema intensivo e tampouco foram observados esforços para produção de linhas genéticas mais robustas nesta espécie, por meio de seleção genética.

Para realizar a seleção, é necessário estabelecer critérios de seleção apropriados. A literatura científica aponta a glicose como indicador adequado de estresse em peixes (Love, 1980, Silva et al., 2012, EL-Khaldi, 2010, Conde-Sieira et al., 2015). Neste contexto, objetivou-se responder a seguinte indagação: pode-se melhorar o bem-estar em Tilápia do Nilo por meio de seleção genética, utilizando a glicose sanguínea com critério de seleção? Para tanto, foram estimados os parâmetros genéticos para nível de glicose sanguínea e peso vivo e organizados dois grupos genéticos distintos (com alto e baixo valor genético aditivo para glicose sanguínea) nos quais foram realizados os estudos da expressão gênica da Catalase e Glucose Transporte 1 e da resposta ao estresse de manejo sobre o desempenho.



## 2. Metodologia

### 2.1. Local, Animais utilizados e Manejos realizados nos experimentos 1, 2 e 3

O estudo foi realizado utilizando dados de três experimentos associados. Os animais foram cultivados na Unidade demonstrativa de produção em tanques-rede da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no Rio do Corvo, reservatório de Rosana, localizado no município de Diamante do Norte – PR (22° 39' 24" S 52° 46' 51" O). Todos os procedimentos de manejo dos animais e nas coletas dos dados obedeceram às normas éticas e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM), protocolo – CEUA: 9164040418.

Os animais avaliados nos experimentos (1, 2 e 3) são da décima geração da variedade TILAMAX desenvolvida no programa de melhoramento genético de tilápia do Nilo da UEM (PMGT – Tilamax/UEM), resultado da importação de animais da variedade GIFT da Malásia, no ano 2005, fruto de uma parceria entre a World Fish Center e a UEM (Oliveira et al., 2016).

Durante os experimentos, os animais seguiram o programa alimentar Poli-nutri para tilápias em tanque-rede. A qualidade da água foi avaliada diariamente, duas vezes ao dia (08h e 17h), sendo monitorado o oxigênio dissolvido (oxímetro YSI modelo 55 dissolved oxygen) e temperatura da água e do ambiente (termômetro analógico Incoterm) (Tabela 4).

### 2.2. Experimento 1: Estimação de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo

Foram utilizadas informações coletadas dos animais (machos e fêmeas) da décima geração do núcleo de seleção do programa de melhoramento genético de Tilápia do Nilo da UEM (PMGT/UEM) (Tabela 1). O sistema de acasalamentos e formação das famílias seguiu a metodologia descrito por Oliveira et al. (2016).

Os animais foram cultivados em dois tanques-rede de 6m<sup>3</sup> (2x2x1,5) com densidade de 135 peixes/m<sup>3</sup> durante 207 dias (fevereiro a agosto de 2019) na Unidade demonstrativa de produção em tanques-rede da UEM.

A biometria foi realizada para a mensuração do peso vivo (PV, em g) e níveis de glicose sanguínea (GL, em mg/dL) de todos os animais. Para coleta dos dados os animais foram submetidos ao período de jejum de 12h a 20h, conforme descrito por Araújo et al. (2021) dados não publicados. O peso vivo foi mensurado usando balança eletrônica

(modelo 9094 – Toledo). A glicose no sangue foi avaliada com o uso de um glicosímetro portátil (Accu-Chek® Active – Roche Diagnóstica Brasil Ltda) conforme Okamura et al. (2007) e Moreira et al. (2011).

Foram realizadas análises de consistência dos fenótipos, do pedigree e estatística descritiva das características estudadas (Tabela 1). A matriz de parentesco considerou o pedigree completo do PMGT/UEM, contendo informações 20.976 animais.

**Tabela 1** – Número de Animais (ANI), número de família avaliadas (NF), número médio de progênies por família (PF), nível de glicose (GL) e peso vivo (PV).

Características	ANI	NF	PF	Média ( $\pm$ SD)	Min	Max	CV%
GL mg/dL	1499	88	17.03	58.26(22.29)	14	210	38.26
PV g	1499	88	17.03	926.38(298.04)	143	2140	32.17

Para estimação dos componentes de (co)variância, parâmetros genéticos e valores genéticos foi realizada análise bicaracter, combinando GL e PV. A definição dos fatores que compuseram o modelo estatístico das características, levou em consideração o Critério de Informação de Akaike (AIC) obtido por meio de análises unicaracter (Akaike, 1974) (Tabela 2).

**Tabela 2** – Efeitos que compuseram os modelos estatísticos para a avaliação genética das características estudadas.

Característica	Fam	TR	HC	HC <sup>2</sup>	Sexo	IDA	IDA <sup>2</sup>	PC	PC <sup>2</sup>	AIC
GL mg/dL	-	X	X	X	X	-	-	-	-	12812,31
PESO g	-	X	X	X	X	X	-	X	X	20088.71

Fatores com “X” foram os que compuseram os modelos nas análises. Fam= efeito de família; TR= efeito de tanque-rede; HC e HC<sup>2</sup>= efeito linear e quadrático da hora da colheita dos dados, respectivamente; IDA e IDA<sup>2</sup>= efeito linear e quadrático de idade, respectivamente; PC e PC<sup>2</sup>= efeito linear e quadrático do peso a chipagem, respectivamente.

A descrição matricial do modelo bicaracter utilizado nas análises está abaixo:

$$\begin{pmatrix} Y_1 \\ Y_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \end{pmatrix}$$

Em que,  $Y_1$  e  $Y_2$  são os vetores de observações para as características estudadas GL e PV, respectivamente;  $X_1$  e  $X_2$  são as matrizes de incidência dos efeitos fixos para as características GL e PV, respectivamente;  $\beta_1$  é o vetor dos efeitos fixos para a característica GL contendo os efeitos de tanques-rede e sexo, os coeficientes de regressão relativos ao efeito linear e quadrático da hora de colheita dos dados;  $\beta_2$ = vetor dos efeitos

fixos para a característica peso que além dos efeitos fixos descritos para glicose sérica, continha os coeficiente linear e quadrático da idade do animal e do peso a chipagem;  $Z_1$  e  $Z_2$  são as matrizes de incidência dos efeitos genéticos aditivos diretos para GL e PV, respectivamente;  $a_1$  e  $a_2$  são os vetores dos efeitos aleatórios genéticos aditivos diretos das características GL e PV e  $\varepsilon_1$  e  $\varepsilon_2$  = vetores dos efeitos residuais aleatórios associados a GL e PV, respectivamente.

Todas as análises de estimação dos componentes de (co)variância (uni e bicaracter) foram realizadas por meio do método da máxima verossimilhança restrita (REML), utilizando os programas computacionais da família BLUPF90 (AIREMLF90 e BLUPF90) desenvolvidos por Misztal et al. (2020). A herdabilidade direta, as respostas direta e correlacionada à seleção foram estimadas utilizando  $h_d^2 = \sigma_d^2/\sigma_p^2$ ;  $\Delta G = h_d^2 * i * \sqrt{\sigma_p^2}$  e  $R_c = r_{xy} * \sqrt{h_x^2} * \sqrt{h_y^2} * i * \sqrt{\sigma_p^2}$ , respectivamente, conforme descrito por Falconer & Mackay (1996).

### 2.3. Experimento 2: gene expression analysis Catalase e Glucose Transport 1

Foram realizadas a expressão dos genes Catalase (*CAT*) e Glucose Transporte 1 (*GLUT1*) de 16 animais, separados em dois grupos. O primeiro grupo foi formado por animais com baixo valor genético aditivos para GL (EBVl) e o segundo grupo com animais de alto EBV para GL (EBVh). Os EBV foram preditos utilizando a metodologia das equações de modelo mistos Henderson (1984), implementado no programa computacional BLUPF90 Misztal et al. (2020), a partir dos componentes de (co)variância estimados no experimento 1. As médias dos valores genéticos para os dois grupos EBVl e EBVh foram -11,69 mg/dL e 10,63 mg/Dl, respectivamente.

Foram coletadas amostras do fígado de 8 peixes (4 machos e 4 fêmeas) de cada grupo, os animais estavam em jejum (12h a 20h) conforme descrito por Araújo et al (2021) dados não publicados. As amostras foram acondicionadas em um tubo eppendorf e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C até a extração do RNA total.

O RNA total foi extraído com uso do reagente TRIzol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as instruções estabelecidas pelo fabricante. Todos os materiais utilizados foram previamente tratados com inibidor de RNase - RNase AWAY® (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA).

Para quantificar e avaliar a pureza do RNA, foram utilizados 1 µL de cada amostra em um Espectrofotômetro Nanodrop 2000-c (Picodrop Limited, Hinxton, Reino Unido). Após a quantificação do RNA em ng/µL, foi realizado a avaliação da pureza e qualidade do RNA, sendo observada as razões da absorvância 260/280 e 260/230, em que valores fora dos padrões estabelecidos (~2,0 e 1,8-2,2, respectivamente) indicam a presença de contaminantes na amostra. As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para remoção de resíduos de DNA genômico, de acordo com as instruções estabelecidas pelo fabricante.

Para as Reações em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-qPCR), foi utilizado o corante fluorescente Platinum SYBR Green ® PCR Master Mix. Todas as análises seguiram as recomendações do PowerUP™ Green Master Mix (Applied Biosystems – REF: A25743) no termociclador StepOne™ Real Time PCR System versão 2.3 (Applied Biosystems™).

Os primers específicos para os genes que codificam a catalase (número de acesso: JF801726.1) e Glucose transporter 1 (número de acesso: NM\_001279727.1) foi projetada com base em sequências de genes depositadas no banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Tabela 3) usando o sistema Integrated DNA Technologies (<http://www.idtdna.com>). O gene da β-actina (número de acesso: XM\_003455949) foi utilizado como controle endógeno. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em unidades arbitrárias (AU).

**Tabela 3** – Primers utilizados para a reação quantitativa em cadeia de polimerase em tempo real (RT-qPCR).

Genes		Sequência dos primer	Amplicom (bp)
CAT	Forward	5'-CCCAGCTCTTCATCCAGAAAC- 3'	209
	Reverse	5'-GCCTCCGCATTGTACTTCTT- 3'	
GLUT1	Forward	5' -ATTTCCCAACAGCCCTAC- 3'	147
	Reverse	5' -GATGAAGAGGAAAGCCAGGAG- 3'	
β-actina	Forward	5' - TGGTGGGTATGGGTCAGAAAG - 3'	217
	Reverse	5' - CTGTTGGCTTTGGGGTTCA - 3'	

*bp = base pairs; CAT = gene catalase; GLUT1 = gene transportador de glucose 1.*

Para a análise de expressão gênica, foi utilizado o método  $2^{-\Delta CT}$  (Livak & Schmittgen, 2017). Foi verificada a distribuição dos dados (Shapiro and Wilk, 1965). Em seguida foi realizada análise de variância (ANOVA) dos dados de expressão dos genes β-actina, CAT e GLUT1 (UA) e verificada suas significâncias entre os grupos pelo teste-F

a 5% utilizando o pacote ExpDes.pt. (Ferreira et al., 2018). Todas as análises foram realizadas no software estatístico R® Development Core Team (2020).

#### *2.4. Experimento 3: resposta ao manejo*

Em um dos tanques-rede utilizados para avaliação genética (experimento 1), foi realizado um manejo de biometria (pesagem), no qual todos os animais foram manuseados um a um, após 22 dias do manejo todos os animais foram pesados. Neste tanque haviam 494 animais, das 88 famílias avaliadas.

A partir dos valores genéticos aditivos obtidos nas análises do experimento 1, foram organizados dois grupos segregantes. Os animais foram ordenados de acordo com o valor genético estimado para nível de glicose sanguínea, em seguida foram tomados os indivíduos nos quais os valores genéticos eram menores que o primeiro decil (w10) e maiores que nono decil (top10). Destes animais, foram medidos o peso vivo (g) e ganho em peso diário (g) até o manejo e no intervalo do manejo a biometria final.

Para avaliar as diferenças significativas entre os grupos testados para as características medidas, foi aplicado a análise de variância, por meio do teste de F a 5% significância. Para realização das análises utilizou-se o pacote ExpDes.pt (Ferreira et al., 2018), desenvolvido para o software estatístico R® Development Core Team (2020).

### 3. Resultados

Os resíduos de todas as características testadas apresentaram distribuição normal, segundo o teste de Shapiro Wilk ( $p < 0.05$ ). Após a colheita sanguínea para a avaliação da glicose não foram observadas mortalidades nem infecções.

A qualidade da água foi avaliada diariamente, duas vezes ao dia (08 e 17h), sendo monitorado o oxigênio dissolvido, temperatura da água e do ambiente, observou-se pouca variação desses parâmetros em ambos os experimentos (Tabela 4).

**Tabela 4** – Parâmetros de qualidade de água dos experimentos.

Experimentos	Turno	OD	Temp. água	Temp. Am.
2	Manhã	6,40	25,19°C	19,41°C
	Tarde	7,20	25,66°C	26,01°C
3	Manhã	6,25	24°C	20,48°C
	Tarde	7,23	24,26°C	29,57°C
4	Manhã	6,20	23,88°C	20,36°C
	Tarde	7,30	24,20°C	29,56°C

OD= oxigênio dissolvido e; Temp. água e Temp. Am.= temperatura da água e do ambiente, respectivamente.

#### 3.1. Estimação de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo

As estimativas de herdabilidades para as características GL e PV resultantes das análises bicaracter foram 0,26 e 0,63, respectivamente (Tabela 5). A correlação genética entre elas foi significativa (0,32), estes valores apontam que a seleção direta para PV pode promover ganhos genéticos em GL (Tabela 5).

**Tabelas 5** - (Co)variâncias, herdabilidades e correlação genéticas das características nível de glicose (GL) e peso vivo (PV) em Tilápia do Nilo obtidas em análises bicaracter.

	GL mg/dL	PV g
$\sigma_d^2$	85,578	32940
$\sigma_{dxy}$		532,55
$\sigma_r^2$	242	19004
$\sigma_{rxy}$		-11,204
$\sigma_p^2$	327,578	51944
$h_d^2$	0,26 ( $\pm 0,05$ )	0,63 ( $\pm 0,08$ )
$r_d$		0,32 ( $\pm 0,14$ )

$\sigma_d^2$ = variância genética aditiva direta;  $\sigma_{dxy}$ = covariância genética aditiva direta entre as características;  $\sigma_r^2$ = variância residual;  $\sigma_{rxy}$ = covariância residual entre as características;  $\sigma_p^2$ = variância fenotípica;  $h_d^2$ = herdabilidade direta e;  $r_{dxy}$ = correlação genética entre as características.

Os valores da resposta direta de PV e GL foram 252 g e 8,3 mg/dL, sendo 21% e 7% maiores que a resposta correlacionada (Tabela 6).

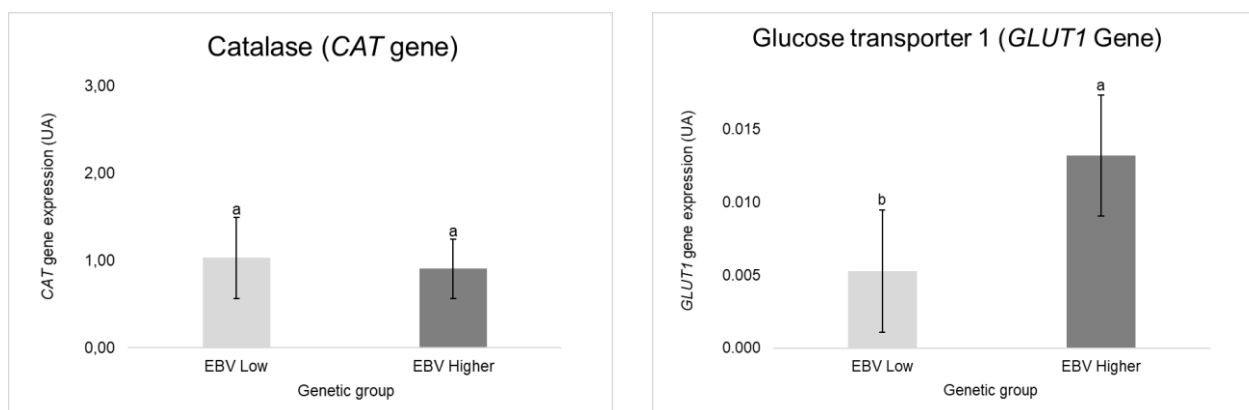
**Tabelas 6** – Resposta direta e correlacionada e seus respectivos ganhos das características nível de glicose em mg/dL (GL) e peso vivo em g (PV).

Características	RD	GD (%)	RC	GC(%)
Nível de glicose mg/dL	8,28	14,22	4,13	7,08
Peso vivo g	252,71	27,28	51,95	5,61

RD= resposta direta à seleção; GD= percentual de ganho em RD; RC= resposta correlacionada e; GC= percentual de ganho em RC.

### 3.2. Expressão dos genes Catalase e Glucose Transporte 1

As médias da expressão do gene *CAT* entre os grupos genéticos EBVI (1.01 UA) e EBVh (1.03 UA) não apresentaram diferença na expressão do mRNA (p-value>0.05). Para a expressão do gene *GLUT1*, os grupos genéticos são diferentes estaticamente pelo teste-F (p-value<0.01), sendo verificado superioridade de 2,51 vezes do grupo EBVh (0.013 UA) em comparação com grupo EBVI (0.005 UA) (Figura 1).



**Figure 1** – Análise de expressão dos genes Catalase (*CAT*) e Glucose Transporter 1e (*GLUT1*) em Tilápia do Nilo.

### 3.3. Resposta ao manejo

O desempenho dos animais com valor genético elevado (TOP10) para glicose foi superior ao desempenho dos indivíduos com baixo valor genético (W10), antes e após o manejo. Não foi observada diferença significativa nos pesos inicial dos grupos (Tabela 7).

**Tabela 7** – Resposta ao estresse em dois grupos de Tilápias do Nilo (alto e baixo valor genético (EBV) para glicose) antes e depois de um manejo de rotina quando considerado 10% dos melhores indivíduos de cada grupo.

Características	Alto EBV para glicose		Baixo EBV para glicose	
	Média( $\pm$ SD)	N	Média( $\pm$ SD)	N
Peso inicial g	9,64(3,94) <sup>A</sup>	50	10,42(5,48) <sup>A</sup>	50
Peso antes do manejo g	901,16(291,83) <sup>aA</sup>	50	786,58(278,88) <sup>aB</sup>	50
Peso depois do manejo g	969,64(305,71) <sup>aA</sup>	50	835,46(281,79) <sup>aB</sup>	50
GP antes do manejo g	5,077(2,249) <sup>aA</sup>	50	4,400(1,577) <sup>aA</sup>	50
GP depois do manejo g	3,113(1,948) <sup>bA</sup>	50	2,222(1,827) <sup>bB</sup>	50
VG glicose mg/dL	12,38(3,18) <sup>A</sup>	50	-10,34(1,78) <sup>B</sup>	50
VG peso vivo kg	9,85(141,56) <sup>A</sup>	50	-56,88(121,24) <sup>B</sup>	50

Médias seguidas por letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste-F. GP= Ganho em peso médio diário e; DEG= diferença entre os grupos. SD= desvio-padrão e N= números de animais avaliados.



#### 4. Discussão

Com base nos resultados não foram observadas mortalidades nem infecções após a colheita sanguínea para a avaliação da glicose indicando que os procedimentos realizados para a avaliação da glicose não trouxeram prejuízos econômicos para atividade. Esse resultado é muito importante para que uma característica se torne alvo de seleção.

Os parâmetros de qualidade de água em ambos os experimentos se mostram estáveis (Tabela 4). Observou-se que os parâmetros avaliados estão dentro dos limites aceitáveis para boa qualidade da água segundo os valores referência do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005 como águas destinadas à criação natural e intensiva (aquicultura) de organismos aquáticos ao consumo humano. Dessa forma, as pequenas oscilações na qualidade de água não se apresentaram como fator importante na determinação dos resultados e tampouco como fonte causadora de estresse.

Os valores médios de glicose sanguínea obtidos no estudo foram 58.26 mg/dL. Nos grupos EBVI e EBVh observou-se valores médios de 56 mg/dL e 70 mg/dL, respectivamente. Estes valores são inferiores aos obtidos na literatura científica consultada que variaram de 95 a 180 mg/dL, contudo estes valores foram obtidos em situações de estresse agudo, como exposições a anestésico, eletrochoque, temperatura, seleneto de sódio, hipóxia e exposição à amônia (Tavares-Dias & Sandrim, 1998; Deriggi, et al., 2006; Barreto & Volpato 2006; Davis & Peterson, 2006; Miller et al., 2007; Moreira et al., 2011; Silva et al., 2012; Barbieri & Bondioli, 2015), enquanto estes resultados foram obtidos em condições de cultivo.

##### *4.1. Estimação de parâmetros genéticos e avaliação genética das características níveis de glicose sérica e peso vivo*

As características estudadas apresentaram variabilidade genética aditiva de magnitude que pode resultar em ganhos genéticos expressivos com o uso da seleção genética (Tabela 5). A mensuração da GL pode auxiliar os programas de melhoramento genético na seleção de indivíduos melhor condicionados ao sistema de cultivo. A herdabilidade estimada para GL neste estudo foi superior as relatadas por Fevolden et al. (1993) e Tanck et al. (2001) de 0,07 e 0,19, respectivamente, porém nesses trabalhos ao

contrário deste, que foram estimadas a herdabilidade com base na resposta ao estresse agudo (hipóxia e choque térmico).

A correlação genética de GL com PV (0,32) foram significativas e favoráveis, porém de baixa magnitude (Tabela 5). Os resultados apontaram que o processo seletivo para PV pode resultar no incremento dos níveis sanguíneos de glicose. O ganho genético esperado é a cerca de 7% de incremento nos níveis de glicose ao selecionar para PV (Tabela 6).

Considerando que os animais avaliados fazem parte do programa de melhoramento (PMGT/UEM) que seleciona para velocidade de crescimento há 10 anos. Uma das hipóteses consideradas na diferença do nível de glicose sanguínea dos animais com alto e baixo potencial genético de crescimento, é que os animais com maior taxa de crescimento tendem a ser mais tolerantes a glicose podendo utilizá-la melhor em comparação aos seus ancestrais (peixes selvagens) que segundo Wright et al. (1998) são sensíveis a glicose.

#### 4.2. Expressão dos genes *Catalase* e *Glucose Transporte 1*

As análises de expressão gênica (Figura 1) corroboraram com os resultados da avaliação genética realizada (experimento 1). Em que foi verificada distinção na expressão gênica para GLUT1, nos grupos de diferentes médias dos EBV.

Ao investigar a expressão dos genes *Catalase* (*CAT*) e *Glucose transporte 1* (*GLUT1*) intentou-se verificar se os grupos segregantes para GL (experimento 1) estavam associados a expressão gênica diferenciada para um gene relacionado ao estresse (*CAT*) e para avaliar capacidade dos animais em metabolizar a glicose (*GLUT1*).

A expressão genica para enzima antioxidante *Catalase* (*CAT*) não foi diferente entre os grupos genéticos, apontando que as condições de cultivo em que os animais foram submetidos não resultou em níveis elevados de estresse. Segundo (Alti & Canli, 2007) a expressão da *CAT* só é significativa em condições de extremo estresse oxidativo, elevando os compostos peróxidos nos tecidos (Figura 1). Diante disso, pode-se dizer que neste estudo a glicose sanguínea passou a ser um indicador de condicionamento ao ambiente ao invés de estresse agudo, pois os resultados desta pesquisa apontam que os animais com maior valor genético para glicose apresentaram maior expressão do gene GLUT1.

Segundo Planas et al. (2000), Krasnov et al. (1999), Lopes et al. (2007), Reichardt et al., (2012), Zhang et al. (2013), Heim et al. (2014), Liemburg-Apers et al. (2015) a

expressão deste gene está ligada a metabolização da glicose, sendo esta a principal causadora de estresse metabólico provocado pela nutrição que interfere no desempenho dos peixes.

As proteínas transportadoras de glicose estão diretamente relacionadas ao metabolismo dos carboidratos e possuem grande importância para a entrada da glicose nas células dos tecidos periféricos. O GLUT1 é um transportador de glicose insulino-independente (Voet & Voet, 2006), ou seja, a captação de glicose independe da estimulação pela insulina que é ocasionada principalmente pela alimentação.

Considerando que os dois grupos passaram pelo mesmo período de jejum e segundo Hrytsenko et al. (2010) a expressão do *GLUT1* na Tilápia do Nilo, na maioria dos tecidos, é dificilmente influenciada pelo consumo de alimentos. A maior expressão de *GLUT1* no grupo com maior valor genético para glicose pode indicar que esses indivíduos são geneticamente superiores quanto à absorção e metabolismo de glicose.

Estudos com as principais espécies de produção (bovinos, suínos e aves) apontam que a maior expressão do gene *GLUT1* está correlacionado com o aumento da digestibilidade dos nutrientes, maior metabolismo de carboidratos e maior absorção de glicose pelas células, que por sua vez têm maiores quantidades de glicose metabolizada, levando a maior competência de desenvolvimento desses indivíduos (Lopes et al., 2007; Reichardt et al., 2012, Zhang et al., 2013, Heim et al., 2014).

Krasnov et al. (1999) com o objetivo de examinar o potencial de transferência de genes (humanos) para aumentar o metabolismo dos carboidratos pelos peixes, mostraram que nas células transformadas (com GLUT1 humano) a taxa de absorção de glicose aumentou 30 a 80 vezes, concluindo que peixes transgênicos superexpressos do *GLUT1* humano têm aumento na absorção e no metabolismo de glicose.

Vários estudos relatam à similaridade estrutural e funcional das proteínas transportadoras de glicose (GLUTs) entre os peixes e outros vertebrados (Collie & Ferraris, 1995, Teerijoki et al., 2001, Díaz et al., 2007, Polakof et al., 2007, Díaz et al., 2009), o GLUT1 especificamente tem 80-97% de semelhança (Li et al., 2018).

Neste contexto, a inclusão da medição dos níveis séricos de glicose nos programas de melhoramento genético de Tilápia do Nilo, pode auxiliar na seleção de peixes melhor condicionados ao sistema de cultivo, quanto a sua melhor eficiência do metabolismo de glicose e aproveitamento dos alimentos energéticos, como os carboidratos. Dessa forma, espera-se melhora nos aspectos de bem-estar, relacionados ao metabolismo desequilibrado e perturbações ambientais.

A partir dos resultados expostos acima, sugere-se a realização de estudos que avaliem a capacidade de absorção e utilização de glicose por Tilápias do Nilo melhoradas para velocidade de crescimento, com objetivo de entender se para estes animais (geneticamente superiores) é possível aumentar a inclusão de carboidratos na ração, ao invés dos elevados percentuais de proteína, diminuindo os custos de produção que representam mais de 65% do custo operacional efetivo (Muñoz et al., 2016). Adicionalmente, estes resultados demandam mais estudos que investiguem a relação da maior expressão de *GLUT1* com a eficiência alimentar em Tilápias do Nilo.

#### 4.3. Resposta ao manejo

O grupo com alto valor genético para glicose apresentou melhor desempenho em resposta ao estresse, resultado que pode estar relacionado com o melhor condicionamento ao manejo realizado (manuseio dos animais, simulando uma classificação).

Vale ressaltar que, os pesos iniciais dos grupos são estatisticamente iguais e que a diferença no desempenho foi observada ao longo do cultivo (Tabela 7). Além disso, o ganho em peso médio diário (GPD) teve redução menos expressiva de 1,964g (5.077g-3.113g) no grupo de alto EBV (EBVh) quando comparado ao grupo com baixo valor genético para glicose de 2,178g (4.400g-2.222g), mostrando melhor condicionamento ao sistema de cultivo dos animais com valor genético elevado para glicose quando comparados os de baixo valor genético (Tabela 7).

Esse melhor desempenho do grupo com alto EBVh para glicose após uma situação estressante (Tabela 7), pode estar relacionado ao fato desses animais apresentarem maior eficiência e capacidade de utilizar melhor a glicose em comparação ao grupo de baixo EBV (EBVl) para glicose. Visto que, indivíduos com alto EBVh para glicose apresentam maior expressão do gene *GLUT1* (Figura 1) e este está intimamente relacionado com a maior captação de glicose pelas células e desenvolvimento dos animais (Krasnov et al., 1999, Voet & Voet, 2006, Lopes et al., 2007; Reichardt et al., 2012, Zhang et al., 2013, Heim et al., 2014).

Estes resultados indicaram que os animais com valor genético elevado para glicose têm melhor condicionamento ao sistema de cultivo, são mais eficientes, tolerantes e resistentes a situações estressantes ocasionadas por algum manejo de rotina no ambiente de produção (transporte, biometrias, classificação, vacinação dentre outros), mostrando que a seleção para GL pode resultar em animais mais robustos.

No entanto, levando em consideração que os animais avaliados para GL têm sido selecionados há mais de 10 anos (uma geração por ano) para velocidade de crescimento e que a seleção para característica de desempenho PV mostrou ganho de 7% no incremento dos níveis de glicose (Tabelas 5 e 6). A avaliação genética para as características (GL e velocidade de crescimento) pode contribuir para a seleção de animais mais tolerantes e resistentes a situações estressantes ocasionado pelos manejos de rotina, possibilitando o desenvolvimento de uma variedade de Tilápia do Nilo mais condicionada às condições de cultivo.

Além disso, a seleção para aumentar a taxa de crescimento (PMGT/UEM) pode ter contribuído para a seleção de animais mais eficientes quanto ao metabolismo de glicose. Porém, a presente pesquisa fornece apenas uma visão inicial das complexas vias metabólicas envolvidas no metabolismo de glicose.

## **5. Conclusão**

A partir dos resultados deste estudo que avaliaram a relação entre glicose-ambiente-estresse, concluiu-se que com base na seleção genética para glicose é possível melhorar o bem-estar em tilápia do Nilo cultivadas em sistema de tanques-rede

## 6. Referências

- Akaike, Hirotugu. (1974). "A New Look at the Statistical Model Identification." IEEE Transactions on Automatic Control 19(6): 716–23.
- Atli, G., & Canli, M. (2007). Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*, Comp. Biochem. Physiol., 145: 282–287.
- Barbieri, E. & Bondioli, A. C. V. (2015). Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. Aquaculture Research. 46(3):565-571,
- Barreto, R. E. & Volpato, G. L. (2006). Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 39: 1605-1612.
- Barton, B. A. (2002). Stress in fish: A diversity of responses with particular reference to changes in circulation corticosteroids. Integrate and Composition in Biology. v. 42, p.517-525.
- Barton, B.A. (1988). Endocrine and metabolic responses of fish to stress. Int. Assoc. Aquat. Anim. Med. Proc. 19: 41-55.
- Collie, N.L., Ferraris, R.P. (1995). Nutrient fluxes and regulation in fish intestine, in: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), Metabolic Biochemistry. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. 4, 221-239.
- Conde-Sieira, M., Soengas, J. L., and Valente, L. M. (2015). Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo- and hyper-glycaemia. Aquaculture, 438, 59-67.
- Davis, K. B. & Peterson, B. C. (2006). The effect of temperature, stress, and cortisol on plasma IGF-I and IGF-BPs in sunshine bass. General and Comparative Endocrinology, 149: 219–225.
- Deriggi, G. F., Inoue, L. A. K. A., and Moraes, G. (2006). Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 28(3), 269-274.
- Díaz, M., Antonescu, C. N., Capilla, E., Klip, A., & Planas, J. V. (2007). Fish glucose transporter (GLUT)-4 differs from rat GLUT4 in its traffic characteristics but can translocate to the cell surface in response to insulin in skeletal muscle cells. Endocrinology, 148(11), 5248-5257.
- Díaz, M., Vraskou, Y., Gutiérrez, J., & Planas, J. V. (2009). Expression of rainbow trout glucose transporters GLUT1 and GLUT4 during in vitro muscle cell differentiation and regulation by insulin and IGF-I. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 296(3), R794-R800.

- EL-Khaldi, A. T. (2010). Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Saudi journal of biological sciences, 17(3), 241-246.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. (1996). Inbreeding and crossbreeding. Introduction to Quantitative genetics. Fourth edition. Pearson Prentice Hall, 247-262.
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A., and Ferreira, M. E. B. (2018). Package 'ExpDes. pt'.
- Fevolden, S. E., Refstie, T., & Gjerde, B. (1993). Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. Aquaculture, 118(3-4), 205-216.
- Goes, E. S. D. R., Goes, M. D., Castro, P. L. D., Lara, J. A. F. D., Vital, A. C. P., & Ribeiro, R. P. (2019). Imbalance of the redox system and quality of tilapia fillets subjected to pre-slaughter stress. PloS one, 14(1), e0210742.
- Haskell, M. J., Simm, G., & Turner, S. P. (2014). Genetic selection for temperament traits in dairy and beef cattle. Frontiers in genetics, 5, 368.
- Heim, G., Walsh, A. M., Sweeney, T., Doyle, D. N., O'shea, C. J., Ryan, M. T., & O'doherty, J. V. (2014). Effect of seaweed-derived laminarin and fucoidan and zinc oxide on gut morphology, nutrient transporters, nutrient digestibility, growth performance and selected microbial populations in weaned pigs. British Journal of Nutrition, 111(9), 1577-1585.
- Henderson, C.R. (1984). Applications of linear models in animal breeding. Canada: University of Guelph. 423p.
- Hrytsenko, O., Pohajdak, B., Xu, B. Y., Morrison, C., & Wright Jr, J. R. (2010). Cloning and molecular characterization of the glucose transporter 1 in tilapia (*Oreochromis niloticus*). General and comparative endocrinology, 165(2), 293-303.
- Krasnov, A., Pitkänen, T. I., Reinisalo, M., & Mölsä, H. (1999). Expression of human glucose transporter type 1 and rat hexokinase type II complementary DNAs in rainbow trout embryos: effects on glucose metabolism. Marine biotechnology, 1(1), 25-32.
- Li, R., Liu, H., Dong, X., Chi, S., Yang, Q., Zhang, S., & Tan, B. (2018). Molecular characterization and expression analysis of glucose transporter 1 and hepatic glycolytic enzymes activities from herbivorous fish *Ctenopharyngodon idellus* in respond to a glucose load after the adaptation to dietary carbohydrate levels. Aquaculture, 492, 290-299.
- Liemburg-Apers, D. C., Willems, P. H., Koopman, W. J., & Grefte, S. (2015). Interactions between mitochondrial reactive oxygen species and cellular glucose metabolism. Archives of Toxicology, 89(8), 1209-1226.



- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2017). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* [Internet]. 2001; 25: 402–8.
- Lopes A. S. et al. (2007). Respiration rates correlate with mRNA expression of G6PD and GLUT1 genes in individual bovine in vitro produced blastocysts. *Theriogenology* 68:223–36.
- Love, R.M. (1980). *The chemical biology of fishes*, vol. 2: advances 1968-1977. Academic Press, London, U.K.
- Mendes, J. M., Inoue, L. A. K. A., and Jesus, R. S. (2015). Influence of transport stress and slaughter method on rigor mortis of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(2), 162-169.
- Miller, L. L., Wang, F., Palace, V. P. & Hontela, A. (2007). Effects of acute and sub chronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 83: 263-271.
- Misztal, I. et al. (2020). Manual for BLUPF90 family of programs. Disponível em: <<http://nce.ads.uga.edu/~shogo/>>. Acesso em: Jan. de 2020.
- Moreira, A. G. L., Teixeira, E. G., Moreira, R. L., and Farias, W. R. L. (2011). Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(3).
- Munoz, A. E. P., et. al. (2016). Informativo Campo Futuro: Custos de produção da Tilapicultura em Santa Fé do Sul - SP. Embrapa. Edição 24, 7f.
- OIE. (2014). World Organization for Animal Health. World Health Organization.
- Okamura, D., Araújo, F. G., Logato, P. V. R., Murgas, L. D. S., Freitas, R. T. F., and Araújo, R. V. (2007). Effect of vitamin C over the haematocrit and glycemia of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) alevins in simulated transport. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(4), 883-888.
- Oliveira, C. A. L., Ribeiro, R. P., Yoshida, G. M., Kunita, N. M., Rizzato, G. S., de Oliveira, S. N., Santos, A. I. and Nguyen, N. H. (2016). Correlated changes in body shape after five generations of selection to improve growth rate in a breeding program for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Brazil. *Journal of applied genetics*, 57(4), 487-493.
- Planas, J. V., Capilla, E., & Gutiérrez, J. (2000). Molecular identification of a glucose transporter from fish muscle. *FEBS letters*, 481(3), 266-270.
- Polakof, S., Míguez, J. M., Moon, T. W., & Soengas, J. L. (2007). Evidence for the presence of a glucosensor in hypothalamus, hindbrain, and Brockmann bodies of rainbow trout. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(4), R1657-R1666.

- R® Development Core Team. (2020). R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Reichardt, S. D. et al. (2012). Glucocorticoids enhance intestinal glucose uptake via the dimerized glucocorticoid receptor in enterocytes. *Endocrinology*, v. 153, n. 4, p. 1783-1794.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples), *Biometrika*, 52: 591–611.
- Silva, R. D.; Rocha, L. O.; Fortes, B. D. A. (2012). Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesq. Vet. Bras.* 32(Supl.1):99-107.
- Subramanian, S. (2013). Feed intake and oxygen consumption in fish. Wageningen UR.
- Tanck, M. W., Vermeulen, K. J., Bovenhuis, H., & Komen, H. (2001). Heredity of stress-related cortisol response in androgenetic common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 199(3-4), 283-294.
- Tavares-Dias, M., & Sandrim, E. F. S. (1998). Características hematológicas de teleósteos brasileiros. I. Série vermelha e dosagens de cortisol e glicose do plasma sanguíneo de espécimes de *Colossoma macropomum* em condições de cultivo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 20, 157-160.
- Teerijoki, H., Krasnov, A., Pitkänen, T. I., & Mölsä, H. (2001). Monosaccharide uptake in common carp (*Cyprinus carpio*) EPC cells is mediated by a facilitative glucose carrier. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 128(3), 483-491.
- Voet, D., & Voet, J. G. (2006). *Bioquímica. Médica Panamericana*. Ed 3ª, 1776p. ISBN-950-06-2301-3.
- Wright Jr, J. R., O'Hali, W., Yang, H., Han, X. X., & Bonen, A. (1998). GLUT-4 deficiency and severe peripheral resistance to insulin in the teleost fish tilapia. *General and comparative endocrinology*, 111(1): 20-27.
- Zhang, W., Summers, L. H., Siegel, P. B., Cline, M. A., & Gilbert, E. R. (2013). Quantity of glucose transporter and appetite-associated factor mRNA in various tissues after insulin injection in chickens selected for low or high body weight. *Physiological genomics*, 45(22), 1084-1094.
- Zupa, W., Carbonara, P., Spedicato, M. T., & Lembo, G. (2015). Modelling swimming activities and energetic costs in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) during critical swimming tests. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(5), 341-357.