



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**ACOMPANHAMENTO DA PRODUÇÃO DE ALEVINOS REVERTIDOS DE  
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus* vr. *chitralada*) E PROPAGAÇÃO  
ARTIFICIAL DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) NO CENTRO DE  
PESQUISAS EM AQUICULTURA DO DNOCS EM PENTECOSTE-CEARÁ**

**MARIA DÉLIA DE PAIVA**

---

**Relatório de Estágio Supervisionado apresentado  
ao Departamento de Engenharia de Pesca do  
Centro de Ciências Agrárias da Universidade  
Federal do Ceará, como parte das exigências para  
a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.**

---

**Fortaleza- Ceará- Brasil  
Dezembro/2007**

## COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Prof. José Wilson Calíope de Freitas, D.Sc.  
Orientador/Presidente

---

Prof. Ricardo Lafaiete Moreira, M.Sc.  
Membro

---

Eng<sup>a</sup>. de Pesca Josenilde de Castro Henrique, Grad.  
Membro

Orientador Técnico:

---

Eng<sup>o</sup> de Pesca – Antônio Roberto Barreto Matos, M.Sc.  
CPAq - DNOCS

VISTO:

---

Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc.  
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

---

Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, Ph.D.  
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

P169a Paiva, Maria Délia de.

Acompanhamento da produção de alevinos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus* vr. chitralada) e propagação artificial do tambaqui (*colossoma macropomum*) no centro de pesquisas em aqüicultura do DNOCS em Pentecoste-Ceará / Maria Délia de Paiva. – 2007.  
51 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2007.

Orientação: Prof. Dr. José Wilson Calópe de Freitas.

Orientador Técnico: Me. Antônio Roberto Barreto Matos.

1. Tilápia (Peixe) - Criação. 2. Tambaqui (Peixe) - Criação. 3. Engenharia de Pesca. I.  
Título.

---

CDD 639.2

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus que me deu forças para vencer os vários obstáculos que encontrei durante essa jornada, e colocado pessoas maravilhosas no meu caminho.

Ao professor Calíope, meu orientador e amigo, pelo apoio e atenção em toda minha formação acadêmica, especialmente na elaboração desse trabalho e minha amiga Leninha.

Ao corpo docente do Departamento em especial às professoras Silvana e Artamizia pela presteza, competência e profissionalismo.

Aos funcionários: Sr. Edilson, Afonso, Zacarias, Omar Ribeiro, Omar Nobre e aos demais pelo apoio e amizade.

Aos funcionários do Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS , Pentecoste – CE, pela receptividade e boa vontade em transmitir conhecimento dando-me oportunidade para a realização desse estágio que muito contribuiu para minha formação profissional.

Aos amigos: Josenilde, Sr. Joselias e José Antonio.

Aos meus amigos do curso de Engenharia de Pesca, em especial a Rochele Alves, Isonilde, Elizabeth Gomes, José Fernandes, Giuseppe, Fernando Lopes, Samíria, Anderson Brandão, Cícero Kelton, pela sincera amizade e companheirismo.

À minha mãe, Francisca, meus irmãos, e em especial ao meu marido, amigo e companheiro, Erivaldo e minha filha Isabela agradeço pela paciência e incentivo.

| <b>SUMÁRIO</b>   | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>LISTA DE FIGURAS</b>  | vi            |
| <b>LISTA DE TABELAS</b>  | x             |
| <b>RESUMO</b>  | xi            |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>   | 1             |
| 1.1. Piscicultura Mundial  | 1             |
| 1.2. Piscicultura no Brasil  | 2             |
| 1.3. Caracterização das espécies                                       | 3             |
| 1.3.1. tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus 1758) | 3             |
| 1.3.1.1. Sexagem manual  | 4             |
| 1.3.1.2. Hibridação  | 5             |
| 1.3.1.3. Supermacho  | 6             |
| 1.3.1.4. Reversão sexual   | 6             |
| 1.3.2. Tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> , Cuvier, 1818)          | 7             |
| 1.3.2.1 Hipofisação  | 9             |
| <b>2. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO</b>                           | 10            |
| <b>3. ETAPAS ACOMPANHADAS DURANTE O ESTÁGIO</b>                        | 12            |
| 3.1. Qualidade da água para uso na piscicultura                        | 12            |
| 3.2. Reprodução da tilápia do Nilo                                     | 13            |
| 3.2.1. Seleção dos reprodutores  | 13            |
| 3.2.2. Acasalamento  | 14            |
| 3.2.3. Despesca  | 16            |
| 3.2.4. Separação e assepsia de ovos, larvas e pós-larvas.              | 18            |
| 3.2.5. Estocagem das pós-larvas nas calhas e hapas de reversão         | 20            |
| 3.2.6. Preparo da ração para a reversão sexual                         | 23            |
| 3.2.7. Teste da reversão sexual  | 24            |
| 3.2.8. Comercialização   | 26            |
| 3.3. Reprodução induzida do tambaqui                                   | 27            |
| 3.3.1. Seleção dos reprodutores  | 27            |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.3.2. Pesagem e marcação                    | 28        |
| 3.3.3. Sondagem ovariana                     | 28        |
| 3.3.4. Hipofiseção                           | 29        |
| 3.3.5. Extrusão e fertilização dos ovócitos  | 32        |
| 3.3.6. Incubação dos ovos                    | 34        |
| 3.3.7. Povoamento dos viveiros de alevinagem | 36        |
| 3.3.8. Comercialização                       | 36        |
| <b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>               | <b>37</b> |
| <b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>         | <b>38</b> |

| LISTA DE FIGURAS  | Página |
|---|--------|
| <b>Figura 1.</b> Exemplar de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758) do plantel de reprodutores do Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS , Pentecoste – CE                      | 4      |
| <b>Figura 2.</b> Dimorfismo sexual: esquerda papila urogenital feminina e a da direita masculina  | 5      |
| <b>Figura 3.</b> Exemplar de tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> , Cuvier, 1818) do plantel de reprodutores do Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE                                 | 8      |
| <b>Figura 4.</b> Vista parcial do Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS (Campus I), Pentecoste – CE  | 11     |
| <b>Figura 5.</b> Tanques destinados ao descanso dos reprodutores de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE         | 14     |
| <b>Figura 6.</b> Exemplar de fêmea de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758) apresentando incubação oral dos ovos, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering - CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE | 15     |
| <b>Figura 7.</b> Viveiro com os hapas de reprodução da tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE                      | 16     |

- Figura 8.** Despesca total de ovos, larvas e pós-larvas e captura, para repouso, dos reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 17
- Figura 9.** Separação de ovos, larvas e pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste –CE 18
- Figura 10.** Tratamento dos ovos em formalina, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 19
- Figura 11.** Incubadora dos ovos e bandeja plástica para coleta das pós-larvas, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 20
- Figura 12.** Seleccionador de pós-larvas para a reversão sexual (malha 2,5mm) de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 21
- Figura 13.** Calhas utilizadas no processo de reversão sexual de pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering - CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 21



- Figura 14.** Hapas de reversão para as pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 22
- Figura 15.** Anel de alimentação dentro do Hapa de reversão para as pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering - CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 23
- Figura 16.** Homogeneização da ração com o hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona para reversão sexual de pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), utilizada no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 24
- Figura 17.** Esquema de Identificação das gônadas no teste de reversão sexual de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), realizado no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 25
- Figura 18.** Alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), acondicionados para comercialização, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 26
- Figura 19.** Seleção dos reprodutores de Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 27

- Figura 20.** Fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) selecionada para reprodução induzida apresentando papila urogenital intumescida, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 28
- Figura 21.** Sondagem ovariana realizada em fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 29
- Figura 22.** Sutura em Z de uma fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) por ocasião da aplicação da 2ª dose hormonal no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 31
- Figura 23.** Coleta de ovócitos e de sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), realizada no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 33
- Figura 24.** Ovos hidratados de fêmeas de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 34
- Figura 25.** Incubadoras de 60L utilizadas para a estocagem dos ovos de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE 35

**Figura 26.** Desenvolvimento embrionário na fase inicial (a), 35  
intermediária (b) e final (c), observadas e fotografadas  
no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von  
Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

| LISTA DE TABELAS  | Página |
|---|--------|
| <b>Tabela 1.</b> Cálculo das doses hormonais para as fêmeas   | 30     |
| <b>Tabela 2.</b> Cálculo da dose hormonal para os machos  | 30     |
| <b>Tabela 3.</b> Somatória das temperaturas (horas-grau) da água do tanque de manipulação durante a reprodução induzida dos tambaquis ( <i>Colossoma macropomum</i> , Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE | 32     |

## RESUMO

O presente estágio supervisionado foi desenvolvido no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq Rodolpho von Ihering, Pentecoste - CE do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas - DNOCS no período de 09 a 31 de julho de 2007, totalizando mais de 128 horas trabalhadas. O estágio teve com objetivo acompanhar as técnicas de reprodução e obtenção de tilápias monosexo, através da reversão sexual e a reprodução induzida do tambaqui. As etapas acompanhadas para a produção de alevinos revertidos de tilápia foram: manejo dos reprodutores em tanques de repouso; acasalamento em hapas; coleta total de ovos, larvas e pós-larvas; seleção e profilaxia de ovos, larvas e pós-larvas; incubação dos ovos; reversão sexual em calhas e hapas; preparação da ração com hormônio masculizante ( $17 \alpha$  metiltestosterona); taxa de arracoamento; seleção e comercialização dos alevinos. As etapas acompanhadas para a produção de alevinos de tambaqui foram: manejo e seleção dos reprodutores; sondagem ovariana; indução hormonal; extrusão e fecundação; incubação; povoamento dos viveiros de alevinagem.

# ACOMPANHAMENTO DA PRODUÇÃO DE ALEVINOS REVERTIDOS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus* vr. *chitralada*) E PROPAGAÇÃO ARTIFICIAL DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) NO CENTRO DE PESQUISAS EM AQUICULTURA DO DNOCS EM PENTECOSTE - CEARÁ

Maria Délia de Paiva

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Piscicultura Mundial

A aquicultura é uma prática tão antiga quanto à agricultura e neste último século vem se desenvolvendo de forma acelerada, tentando acompanhar o ritmo do desenvolvimento tecnológico e o crescimento da população mundial, que em 2005 era de 6,5 bilhões de habitantes (KUBITZA, 2007).

A produção pesqueira mundial, de 18 milhões de toneladas em 1950, triplicou no início da década de 70 alcançando 67 milhões de toneladas representando aumento superior a 6% ao ano, mas no final da década de 70 houve um declínio abrupto da produção para menos de 2% ao ano, declinando ainda mais na década de 90, quando estagnou. Em 2003, a produção pesqueira ficou por volta de 90 milhões de toneladas e, nesse mesmo período, a produção de pescado proveniente de cultivo cresceu para 42 milhões de toneladas, totalizando 132 milhões de toneladas, onde cerca de 103 milhões de toneladas foram destinadas para consumo humano e o restante foi transformado em farinha e óleo de peixe para alimentação animal (HAZIN et al., 2006).

A produção aquícola mundial alcançou, em 2005, foi cerca de 63 milhões de toneladas correspondendo a mais de 40% do total de peixes produzidos no mundo. Dentre os principais grupos de peixes cultivados, a tilápia está em segundo lugar com produção total de, aproximadamente, 2 milhões de toneladas.

Os sete maiores produtores mundiais de tilápias e outros ciclídeos em 2005 foram: a China (48,3%), Egito (10,3%), Indonésia (9,4%), Filipinas (8,0%), Tailândia (5,4%), Taiwan (4,1%), Brasil (3,3%), Malásia, Honduras, Colômbia (1,4%), Equador (1,1%) e Laos (1%). A Ásia contribuiu com 78,5% ,a África com 12,1%, América do Sul com 6,0% e a América do Norte com 3,4% (FAO 2007, citado por TACON, 2007).

Estima-se que a produção pesqueira mundial destinada para consumo humano, cresça cerca de 40% até o ano de 2020 saindo dos atuais 103 milhões de toneladas para 140 milhões, estima ainda, que a maior parcela venha da aquicultura (FAO, 2004, citado por HAZIN et al., 2006)

## 1.2. Piscicultura no Brasil

Entre os países latino americanos, o Brasil ocupa a segunda posição como produtor de pescado cultivado, perdendo apenas para o Chile. A produção aquícola brasileira alcançou 1 milhão de toneladas, entre os anos de 1980 a 1985, em seguida decresceu e se estabilizou próximo de 700 mil toneladas no início do século XXI. Mas de 1990 a 2000, a aquicultura brasileira cresceu em média 23,8% enquanto a aquicultura mundial cresceu apenas 10,2%. Em 2005, a produção de pescado foi cerca de 1,1 milhão de toneladas, sendo 750 mil proveniente da pesca e cerca de 270 mil proveniente da aquicultura, na qual a tilápia respondeu por 38%, os redondos (*Colossoma*, *piaractus* e híbridos do gênero) com 26,7%, as carpas com 23,8%, as trutas com 1,3% e outras espécies com 10,2% (KUBITZA et al., 2007).

Segundo Kubitza (2007), o Ceará concentra a maior produção de tilápias do País. Em 2004 o IBAMA oficializou uma produção de 18 mil toneladas/ano, baseado em previsões da Associação Cearense de Aquicultura (ACEAq) de que 1,5 mil toneladas de tilápias eram comercializadas mensalmente, proveniente de cultivo, destinado para consumo interno.

Ainda segundo o mesmo autor, essa produção vai crescer ainda mais com a implantação de novos projetos de tanques-rede desenvolvidos no primeiro parque aquícola do Brasil, o Castanhão, de onde deverá ser

produzido, aproximadamente, 32 mil toneladas de pescado em 7 mil hectares de espelho d'água.

### **1.3. Caracterização das espécies**

#### **1.3.1. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758)**

As tilápias (Figura 1) são ciclídeos de origem africana contando, atualmente, com mais de 70 espécies, sendo a tilápia do Nilo a segunda espécie mais cultivada no mundo, perdendo somente para as carpas. Esta espécie se destaca das demais pelo rápido crescimento, reprodução tardia, alta prolificidade e quando cultivada em águas verdes, a tilápia do Nilo, apresenta maior taxa de conversão alimentar. Portanto, supera, em crescimento, as demais espécies.

A maioria das espécies de tilápias amadurece sexualmente entre o 4° e 5° mês de vida e dependendo da temperatura, a precocidade pode ocorrer antes do 4° mês e a energia que as fêmeas deveriam usar para o crescimento é desviada para o ato reprodutivo, salientando, ainda, que algumas espécies de tilápias incubam os ovos na boca, ficando vários dias praticamente sem se alimentarem, aumentando ainda mais a diferença de tamanho entre machos e fêmeas (KUBITZA, 2000).

Quando um sexo supera o outro em crescimento, a obtenção de lotes do mesmo sexo pode trazer outras vantagens: dependendo da espécie pode ocorrer a suspensão da reprodução, portanto há economia de energia com atividade reprodutiva alcançando maior tamanho e melhor uniformidade na despesca, gerando uma carne de boa qualidade já que os efeitos da maturação sexual serão diminuídos (Beardmore et al., 2001, citado por CÉSAR et al., 2006). Atualmente, algumas técnicas são usadas na tentativa de minimizar os efeitos da precocidade da espécie como: a sexagem manual, hibridização, super macho e a reversão sexual (CÉSAR et. al., 2006).





Figura 1. Exemplar de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) do plantel de reprodutores do Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS , Pentecoste – CE

#### 1.3.1.1. Sexagem manual

A sexagem é feita após a identificação do dimorfismo sexual entre machos e fêmeas de tilápias do Nilo, pela observação da papila urogenital. Os machos apresentam a papila urogenital mais afastada do ânus, com dois orifícios, o ânus e a uretra por onde passa urina e sêmen (quando comparado com as fêmeas) e as fêmeas apresentam papila urogenital mais próxima do ânus e com formato mais arredondado (quando comparado com os machos). Portanto, as fêmeas apresentam três orifícios, o ânus, oviduto e a uretra (SOUZA, 2002). Normalmente as fêmeas são de menor porte e apresentam o corpo mais baixo que o corpo dos machos. Outra característica que pode ser usada para a sexagem, quando a linhagem é pura, é a coloração. Os machos apresentam a região ventral mais escura enquanto que as fêmeas apresentam uma coloração mais clara e essa coloração varia de acordo com a linhagem (CESAR, et al., 2006).

No Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering - CPAq, a sexagem é feita quando a tilápia do Nilo atinge aproximadamente 10cm e com peso entre 25 a 30g, condições que são atingidas após o período de 30 a

40 dias de estocagem (SOUZA, 2002). Este método, quando realizado por um profissional experiente, pode atingir uma precisão de até 95%.

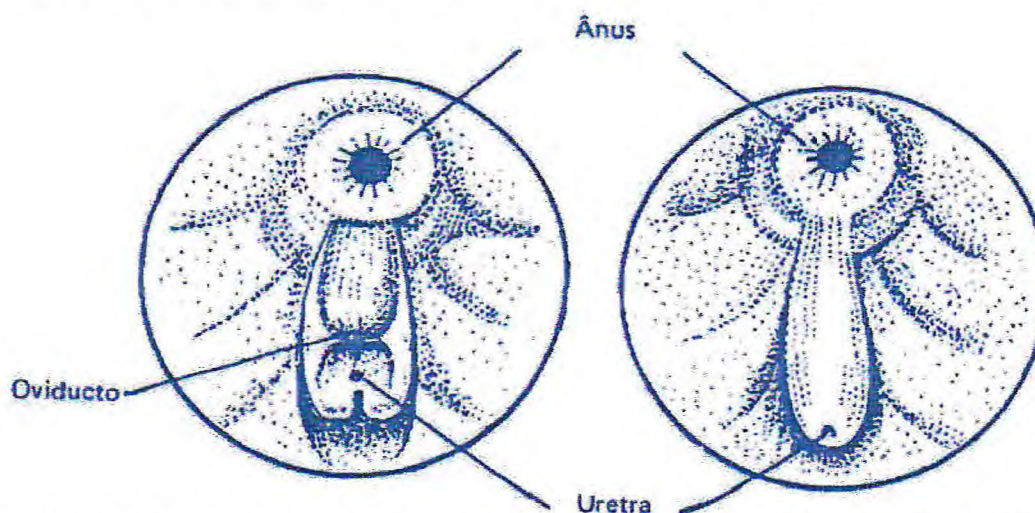


Figura 2. Dimorfismo sexual: esquerda papila urogenital feminina e a da direita masculina

### 1.3.1.2. Hibridação

Consiste no cruzamento interespecífico entre as espécies de tilápias visando à reprodução de machos. Nas tilápias existem quatro genes que determinam o sexo: X, Y, Z e W. Os grupos XX (homogaméticos), WX e WZ (heterogaméticos) determinam o sexo feminino e os grupos ZZ e YY (homogaméticos) e XZ, XY, WY e YZ (heterogaméticos) conferem o sexo masculino (SOUZA, 2002).

O cruzamento entre determinadas espécies de tilápias resulta na produção de híbridos 100% machos. Ao cruzar o macho de *Oreochromis hornorum* (ZZ) ou com o macho de *O. aureus* (ZZ) com a fêmea de *O. niloticus* (XX) ou com a fêmea de *O. mossambicus* (XX) resultará em híbridos 100% machos (POPMA; LOVSHIN, 1996).

### **1.3.1.3. Supermacho**

A obtenção de supermacho é um método eficiente de produção de machos, em escala comercial, mas é um processo demorado que requer uma estrutura mais elaborada para manutenção do plantel, mão-de-obra qualificada e geralmente, o tempo necessário para que sejam executadas todas as etapas é de 4 a 5 anos.

O processo tem início com a feminilização de lotes de pós-larvas com o hormônio etinilestradiol adicionado a ração, obtendo-se fêmeas normais (XX) e fêmeas funcionais (XY), que ao serem cruzadas com machos normais (XY), teoricamente, resultará em 50% de fêmeas normais (XX), 25% de machos normais (XY) e 25% de supermachos (YY). Os supermachos ao serem cruzados com fêmeas normais resultarão em indivíduos 100% machos (XY) (KUBITZA, 2002).

### **1.3.1.4. Reversão sexual**

Das técnicas utilizadas para produção de indivíduos monosexo, a reversão sexual é a mais viável do ponto de vista econômico. Consiste na administração de hormônios masculinizantes (17  $\alpha$  metiltestosterona - MT) adicionados à ração balanceada para as pós-larvas, antes que o órgão reprodutor seja desenvolvido nas fêmeas (ovários), dando lugar ao desenvolvimento de tecido testicular, produzindo indivíduos que cresçam e funcionem reprodutivamente como machos. O momento exato em que deve ser suspenso o tratamento hormonal é desconhecido, mas à temperatura de 24 a 28°C deve durar cerca de três a quatro semanas (KUBTIZA, 2002).

Segundo Popma e Green (1990), desde a década de 80, o processo da reversão sexual vem sendo desenvolvido de forma viável para a obtenção de tilápias monosexo em escala comercial. Segundo os autores, a alimentação com ração contendo hormônio (MT) tem ,geralmente, produzido uma taxa de 95% de eficiência de reversão no período de 21 a 28 dias, dependendo da temperatura.

A densidade de pós-larvas deve ser de 3.000 a 5.000/m<sup>3</sup> por hapa com comprimento das pós-larvas variando de 8 a 13mm para reduzir a quantidade de alimento natural disponível e as pós-larvas consumam somente a ração com

hormônio. Para isso, a ração deve ser palatável, de boa qualidade nutricional a fim de assegurar a ingestão de hormônio na quantidade suficiente para que a reversão sexual seja efetiva (POPMA; LOVSHIN, 1996).

A taxa de alimentação deve ser de 10 a 20% da biomassa total, fracionada em 6 tratos (refeições) diários. No início do tratamento serão ofertados 20% da biomassa até que as pós-larvas atinjam um comprimento de 15mm. Posteriormente passarão a receber 10% da biomassa, até o final do tratamento, quando terão peso médio em torno de 0.2 a 0.8g e com tamanho entre 14 a 25mm, sendo que 95% das pós-larvas devem ser maiores que 14mm (POPMA ; GREEN, 1990: POPMA ; LOVSHIN, 1996).

### **1.3.2. Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818)**

O tambaqui (Figura 3) é o único representante do gênero *Colossoma* (GUIMARÃES, 1999). Até o momento é a principal espécie amazônica cultivada no Brasil. Na natureza, esse peixe pode atingir até 30kg e medir 1,0m de comprimento, sendo considerado o 2º maior peixe de escamas da bacia amazônica perdendo apenas para o pirarucu (*Arapaima gigas*) que o excede em peso e em comprimento. É considerado também como o 2º maior peixe dentre os caraciformes, grupo o qual pertence, perdendo apenas para o tigre gigante (*Hydrocynus goliath* Alestidae) habitante da bacia do Zaire, na África. O tambaqui possui habito alimentar onívoro, frugívoro e planctófago. Na natureza, os jovens são onívoros, na fase pré-adulta são planctófagos e na fase adulta são considerados exclusivamente frugívoro. Os dentes molariformes lhe permitem triturar frutas, sementes, caramujos, dentre outros alimentos que compõem sua dieta nas diversas etapas do ciclo de vida (SILVA; FIGUEIREDO, 1999).



Figura 3. Exemplar de tambaqui, (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) do plantel de reprodutores do Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

Os primeiros exemplares dessa espécie chegaram ao Nordeste em 1966 por intermédio do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), oriundos de Manaus-AM (24 alevinos), quando foram feitas as primeiras tentativas de cultivo dessa espécie. Em 1972 o DNOCS intermediou o 2º lote de 72 alevinos, vindos de Iquitos - Peru, quando se iniciou a colossomicultura nessa região (MARTINS,1997).

A rusticidade para as condições de cultivo, a facilidade de captura, a esportividade e a carne de boa qualidade contribuíram para uma rápida popularização do cultivo desses peixes que se concentram nas regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste do país. Além do clima favorável nessas regiões, o tambaqui ainda desfruta de boa aceitação no mercado interno.

O tambaqui amadurece sexualmente no 2º ou 3º ano de vida, sendo que o macho amadurece mais rápido que a fêmea. O amadurecimento depende da temperatura da água, do manejo, da alimentação dentre outros fatores. Em ambientes tropicais, a maturidade ocorre mais rápida em ambos os sexos (KUBITZA, 2004).

Por ser uma espécie reofílica (peixes de piracema), precisam dos estímulos ambientais para se reproduzir, por isso percorrem longas distâncias

durante o período reprodutivo que compreende os meses de novembro a fevereiro e realizam a desova total. Para a obtenção de alevinos dessa espécie em cativeiro é necessária a interferência humana através da propagação artificial (WOYNAROVICH; HORVÁTH, 1983).

#### **1.3.2.1. Hipofisação**

A técnica mais utilizada para a propagação artificial quando o peixe está maduro sexualmente (fêmea com vitelogênese completa e os machos expelindo sêmen), é a hipofisação que é feita através da aplicação de hormônios hipofisários, ou artificiais, visando à maturação final e a desova. No Brasil essa técnica é conhecida como técnica húngara, que consiste na aplicação de duas doses hormonais nas fêmeas e apenas uma nos machos, com 5 e 2mg/kg de peixe vivo, respectivamente. É a única maneira de se obter ovos de boa qualidade de peixes que não desovam naturalmente estando confinados. A primeira reprodução artificial realizada no Nordeste foi em 1935 pelos pesquisadores Rodolpho von Ihering e Pedro de Azevedo em espécies nativas do Ceará e com algumas espécies do Rio São Francisco e depois foram colocados nos açudes do Nordeste para aumentar a piscosidade do semi-árido, sendo considerado como o marco zero da piscicultura brasileira (CASTAGNOLLI, 2004).

O presente estágio foi realizado No Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering, localizado no município de Pentecoste, e teve como objetivos acompanhar as técnicas da reversão sexual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) da linhagem chitralada e a hipofisação do tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), no período de 09 a 31 de julho de 2007.

## 2. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO

Quase um século se passou desde a criação da instituição federal mais antiga com atuação no Nordeste. Em 21 de outubro de 1909 era criada a Inspetoria de Obras Contra as Secas (IOCS), que posteriormente passou a se chamar Inspetoria Federal de Obras Contra as Secas (IFOCS) e em 1945 foi criado o Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS). Ao longo de vários anos, o DNOCS vem atuando nos açudes públicos (e particulares) do Nordeste (SILVA, 2004), através do Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq (Figura 4), criado por esse órgão em 1972. No ano seguinte, o CPAq foi instalado em uma área próxima as águas do açude Pereira de Miranda, em Pentecoste - Ceará , distante 88km de Fortaleza. Foi inaugurado no dia 08 de Março de 1985, mas suas atividades tiveram início do mesmo ano de instalação (MESQUITA, 2005).

O CPAq conta com uma área útil cerca de 15 hectares dividida em duas unidades denominadas Campus I e II. O Campus I conta com diversas estruturas como: laboratório de aqüicultura, laboratório de limnologia, laboratório de genética molecular, unidade de processamento, biblioteca, setor administrativo, auditório, restaurante alojamento. O Campus II encontra-se em fase de construção, mas já está desenvolvendo o cultivo do pirarucu (*Arapaima gigas*), com objetivo de fornecer tecnologia e base econômica para tornar possível o cultivo dessa espécie em todo o Nordeste.



Figura 4: Vista parcial do Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering CPAq - DNOCS (Campus I), Pentecoste – CE

O CPAq tem como principais atribuições: promover o povoamento e repovoamento das águas interiores, Isto é, do Nordeste com alevinos de espécies selecionadas objetivando ofertar proteína animal de alto valor nutritivo e de baixo custo às populações do semi-árido, coordenar e executar pesquisas relacionadas com à aquicultura e a pesca continental.

As principais espécies mantidas no CPAq para experimento e cultivo são: Apaiari (*Astronotus ocellatus*), Carpa comum (*Cyprinus carpio*), Curimatá comum (*Prochilodus nigricans*), Pacu caranha (*Piaractus mesopotamicus*), Pescada (*Plagioscion squamosissimus*), Pirarucu (*Arapaima gigas*), Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*), Sardinha (*Sardinella brasiliensis*), Tambacu (*Colossoma spp*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Tilápia vermelha (*Oreochromis spp*).



### 3. ETAPAS ACOMPANHADAS DURANTE O ESTÁGIO

#### 3.1. Qualidade da água para uso na piscicultura

A água é um dos insumos mais importantes para qualquer sistema de cultivo. O controle da qualidade da água é o segredo para o sucesso na produção de peixes, para isso são feitas análises qualitativas e quantitativas para determinação de parâmetros físicos, químicos e biológicos, que devem estar de acordo com os padrões recomendados pela resolução N° 20, de 18 de junho de 1986, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 1986).

Segundo Mesquita (2002), quando existem problemas com a qualidade da água, os peixes apresentam menor taxa de crescimento, elevados níveis de doenças e mortalidade. O controle da água é sem dúvida um dos problemas mais difíceis enfrentados pelos aqüicultores, pois não é de fácil compreensão, previsão e administração de alguns parâmetros. No CPAq, a água utilizada para o cultivo encontrava-se dentro dos parâmetros recomendados pela literatura, a seguir:

pH: seus valores se alteram durante as 24 horas, mas nunca deve cair para < de 6,5 e nem subir > de 8,5, podendo ocorrer no período noturno (para menos) ou depois do meio-dia (para mais);

Turbidez: água de boa qualidade é transparente e apresenta visibilidade quando medida no Disco de Secchi entre 35 a 45cm.

Temperatura da água: Não deve sofrer grandes oscilações durante o ano, sendo que para as tilápias, a faixa ótima de temperatura fica entre 26 e 30°C. E se possível deve ser medida, diariamente.

Oxigênio dissolvido: deve ser monitorado, tanto na superfície como no fundo e, principalmente, se a temperatura da água estiver alta. Em geral, para espécies tropicais, como a tilápia, o nível de oxigênio dissolvido deve estar ao redor de 4 mg/L.

Amônia: sendo um produto do metabolismo dos peixes e da degradação da matéria orgânica (animais e vegetais mortos, restos de ração, etc), necessita ser monitorada. O nível ideal para tilápias é de 0,24mg/L (KUBITZA, 2000).

Dióxido de carbono livre: é um parâmetro importante porque se trata de matéria-prima para a realização do processo fotossintético e conseqüente produção de oxigênio dissolvido, porém, em altas concentrações é tóxico para os peixes e corrosivo para os metais, além da acidificação da água. Os níveis subletais estão entre 12 a 50 mg/L e letais de 50 a 60 mg/L

Alcalinidade: os bicarbonatos, carbonatos, amônia, hidróxidos, fosfatos, silicatos e alguns ácidos orgânicos, podem reagir para neutralizar os íons hidrogênio e contribuir para a alcalinidade da água (5mg/L < alcalinidade total < 500mg/L). Os bicarbonatos e os carbonatos, ou ambos, são os responsáveis pela alcalinidade mensurável. Valores de alcalinidade em torno de 50 a 60mg/L são ideais para cultivo da maioria das espécies tropicais.

Dureza total da água: as águas que contém altas concentrações de minerais alcalinos são referidas como águas duras. Cálcio e magnésio são os minerais alcalinos mais abundantes em águas doces. A dureza total ideal para a piscicultura de água doce deve estar na faixa que vai de: 50 a 150mg/L de carbonato de cálcio ou magnésio.

## **3.2. Reprodução da tilápia do Nilo**

### **3.2.1. Seleção dos reprodutores**

O plantel de reprodutores utilizado atualmente no CPAq foi formado com alevinos de tilápias oriundas da Tailândia, em 2002 (MATOS, 2003).

Os reprodutores são acondicionados separadamente em 26 tanques de alvenaria compreendendo uma área de aproximadamente 300m<sup>2</sup>, coberta e revestida com tela de aço para evitar predadores e para manter a linhagem purificada (Figura 5). Os indivíduos são estocados em uma densidade de 1,0 peixe/m<sup>2</sup>, alimentados uma vez ao dia com ração extrusada, contendo 28% de proteína bruta, com taxa de arraçoamento de 1 a 1,5% da biomassa total estocada (KUBITZA, 2002).



Figura 5. Tanques destinados ao descanso dos reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

A seleção dos reprodutores aptos à reprodução foi feita através da sexagem manual, pela observação da papila urogenital. As fêmeas preparadas apresentavam o ventre abaulado e os machos apresentavam a coloração característica para o período reprodutivo e a liberação do líquido espermático com uma leve compressão no abdômen. Nesse momento, também foi feita uma análise visual do estado físico dos reprodutores, observando o estado nutricional, presença de possíveis ferimentos, anomalias, tamanho e idade, pois peixes grandes dificultam o manejo e as fêmeas, quando são jovens, produzem maior quantidade de óvulos, apresentam maior frequência de desova, maior taxa de eclosão e melhor desenvolvimento e sobrevivência das pós-larvas (KUBITZA, 2000).

### 3.2.2. Acasalamento

Os reprodutores selecionados foram transportados para os hapas de acasalamento. Hapas são estruturas confeccionadas com tela de polietileno, com malha de 1,5mm, sustentados por seis estacas fixadas no fundo do viveiro. Cada hapa possuía 15m<sup>3</sup> (10,0m x 1,5m x 1,0m) onde foram

acondicionados 60 indivíduos, sendo 45 fêmeas e 15 machos, numa relação sexual de 3:1, respectivamente (NOBRE. 2002).

Os viveiros, com dimensões de 0,5ha contendo os Hapas, se localizavam próximos à bateria de tanques de repouso dos reprodutores, com objetivo de diminuir a distância e o estresse dos indivíduos, pelos constantes manejos. Os reprodutores permaneceram acasalados nos hapas por 15 dias, alimentados duas vezes ao dia com ração extrusada a 32% de proteína bruta. Durante os primeiros 8 dias, os peixes foram devidamente alimentados e submetidos ao jejum nos últimos 7 dias da reprodução. A diminuição dos dias de arraçoamento se faz necessário, em virtude das fêmeas encontrarem-se com os ovos ou larvas na boca (Figura 6). Outro motivo para a suspensão do alimento foi para aumentar o estresse das fêmeas e como consequência aumentar a freqüência das desovas (KUBITZA, 2000).



Figura 6. Exemplar de fêmea de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) apresentando incubação oral dos ovos, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE.

Para manter o controle de produção, os hapas (Figura 7) foram despescados, diariamente, (de segunda a quinta-feira) na proporção de 6 hapas/dia e povoados outros seis. Desta forma, o CPAq mantém uma

programação de coleta diária de ovos, larvas e pós-larvas. A utilização dos hapas tem como vantagem, o melhor aproveitamento de açudes, tanques e viveiros, facilidade na captura dos reprodutores e coleta do material total de reprodução. Porém, este sistema tem como desvantagens, a obstrução freqüente das malhas pela deposição de matéria orgânica, maior risco de doenças e parasitoses e maior custo de produção (compra de telas e mão - de obra qualificada) (KUBTIZA, 2002)



Figura 7. Viveiro com os hapas de reprodução da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE.

### 3.2.3. Despesca

Passados os 15 dias de acasalamento dos reprodutores, foi feita a despesca total em hapas, de ovos, larvas e pós-larvas (Figura 8).

A despesca começou com a soltura das amarras das estacas e a remoção das estruturas de armação dos hapas. Em seguida foi inserido um cano por baixo da tela, levantando-a até a superfície tendo cuidado para não permitir a fuga dos reprodutores, forçando o adensamento dos indivíduos em uma das extremidades do hapa, facilitando a coleta.



Figura 8. Despesca total de ovos, larvas e pós-larvas e captura, para repouso, dos reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

Primeiramente, com o auxílio de um puçá, foram retirados os reprodutores para evitar injúrias nas pós-larvas. A separação do plantel foi feita através da sexagem manual e todas as fêmeas observadas para saber quais ainda estavam com ovos na boca e, quando encontrados, os mesmos foram delicadamente retirados da cavidade bucal. Após, os ovos foram colocados em um balde, contendo água, e conduzidos para os tanques de separação. As fêmeas foram colocadas em uma “bombona” com água e cloreto de sódio e conduzidas para os tanques de repouso.

O cloreto de sódio é muito utilizado na piscicultura para diminuir o estresse causado pelos constantes transportes e manuseios que removem a camada protetora de muco ocasionando a perda de sais para a água. Quando o transporte é feito com água isotônica, a concentração dos fluidos corpóreos é mantida em equilíbrio com o meio (MESQUITA, 2002).

Ao término da separação, machos e fêmeas foram levados para os tanques de repouso e em seguida foram coletados os ovos que estavam soltos no hapa, larvas e pós-larvas e foram conduzidos para os tanques de manipulação próximos às incubadoras. Segundo Zimmermann (1999), o rodízio dos reprodutores melhora a sincronia das desovas, aumenta a eficiência das coletas de ovos na boca da fêmea, e diminuem as perdas de ovos, pelas remoções constantes dos mesmos, evitando que sejam ingeridos pela fêmea durante a incubação.

#### **3.2.4. Separação e assepsia de ovos, larvas e pós-larvas**

Nos tanques de manipulação, os ovos, larvas e pós-larvas foram colocados em um selecionador (Figura 9) de malha de 2,5mm e submetidos a uma limpeza manual, mediante remoção de escamas, algas, conchas e outras sujidades.



Figura 9. Separação de ovos, larvas e pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

As larvas e pós-larvas são pelágicas e ficavam na superfície do recipiente (bandeja) enquanto que os ovos, que são demersais, se concentravam no fundo do recipiente facilitando assim a separação. Logo após, os ovos foram submetidos a um processo de assepsia pela imersão em uma solução de formalina a 0,1% por 30 segundos para remoção de bactérias e protozoários, principalmente a trichodina, conforme mostra a Figura 10.



Figura 10. Tratamento dos ovos em formalina, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE.

Em seguida os ovos foram acondicionados nas incubadoras (Figura 11). As incubadoras são recipientes plásticos, de forma cilíndrica, com capacidade para 2 litros de água e 300g de ovos. Apresentavam fluxo contínuo da água, onde os ovos permaneceram por um período de 1 a 4 dias, dependendo do estágio de maturação, no qual se encontravam, quando foram coletados. Acoplada à incubadora, existia uma bandeja contendo nas laterais uma pequena abertura telada, para permitir o escoamento da água. Essa abertura era limpa, constantemente, com uma escova, para evitar obstrução da malha e para a retirada das larvas mortas, evitando a proliferação de fungos e parasitas. Após a eclosão, as larvas foram conduzidas pelo fluxo de saída de água da incubadora, caindo na bandeja coletora, onde permaneceram até a absorção completa do saco vitelino, cerca de 2 a 3 dias. Após esse período, as



pós-larvas foram conduzidas para o primeiro estágio da reversão sexual, que correspondeu a 5 dias, num sistema de calhas de amianto.



Figura 11. Incubadora dos ovos e bandeja plástica para coleta das pós-larvas, no Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE.

### 3.2.5. Estocagem das pós-larvas nas calhas e hapas de reversão

As pós-larvas recebidas dos hapas de reprodução foram colocadas no selecionador de 2 malhas (Figura 12) sendo a superior com 2,5mm e inferior com 1,5mm. O objetivo dessa seleção foi eliminar os indivíduos maiores que 13mm e menores que 8mm, considerados impróprios para a reversão. Após a seleção, as pós-larvas foram, também, submetidas ao processo de assepsia com formalina a 0,1% (10L de água e 1mL formalina) por 30 segundos e transportadas para as calhas de reversão (Figura 13) onde permaneceram por 5 dias sendo alimentadas com 6 tratos diários: às 7h, 9h, 11h, 13h, 15h e 17h, com ração contendo o hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona. As remoções dos resíduos orgânicos das calhas foram feitas, diariamente, através de sifonação. As calhas foram mantidas cobertas por uma tela para evitar predadores, principalmente, aves. Esse período de reversão em águas claras é essencial para adaptação das pós-larvas ao alimento artificial, sem a interferência do alimento natural.

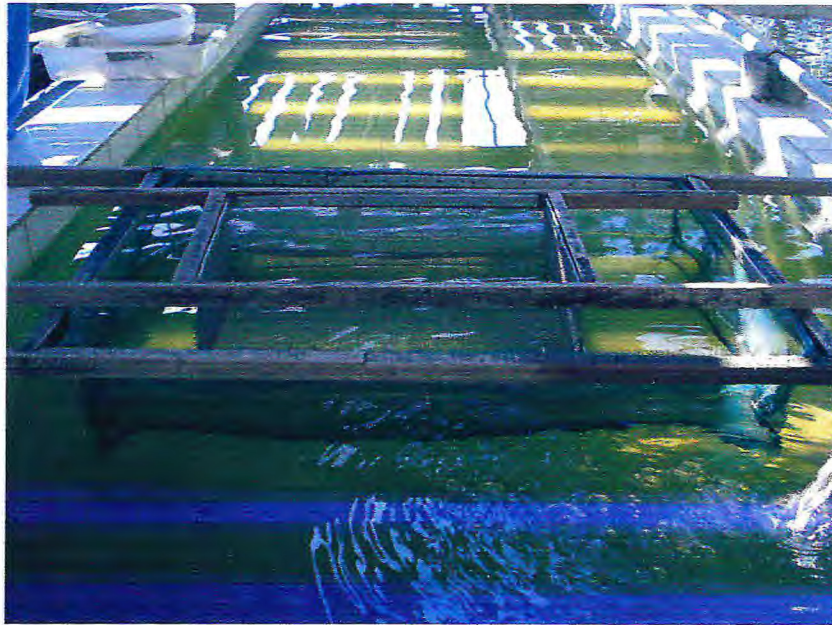


Figura 12. Seleccionador de pós-larvas para a reversão sexual (malha 2,5mm) de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE



Figura 13. Calhas utilizadas no processo de reversão sexual de pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE.

Calhas são estruturas de formato retangular, confeccionadas com fibra de amianto e pintadas com tinta branca epóxi, para facilitar a limpeza e impermeabilização. Possuem capacidade para 100L, cada, e comportam uma densidade de estocagem de 10.000 pós-larvas/calha, com renovação constante de água.

Após o 5º dia, as pós-larvas foram transferidas para os hapas de reversão, (Figura 14) cada um medindo 3m<sup>3</sup> (2,0m x 1,5m x 1,0m), entrando agora para o período da reversão realizado em águas verdes. Neste período as pós-larvas são alimentadas com 6 pratos (refeições) diários, servidos dentro de um anel de alimentação (Figura 15), até o final do tratamento, que durou 21 dias.



Figura 14. Hapas de reversão para as pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

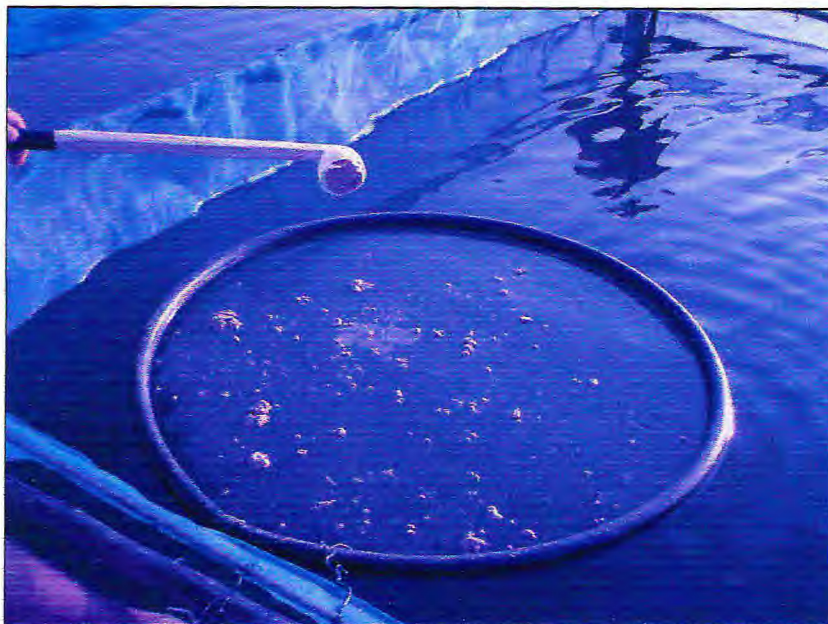


Figura 15. Anel de alimentação dentro do hapa de reversão para as pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

### 3.2.6. Preparo da ração para reversão sexual

A princípio, foi preparada a solução estoque utilizada para a reversão sexual de pós-larvas de tilápias do Nilo, dissolvendo-se 6 gramas do hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona (pó) em 1 litro de álcool etílico PA (99,8%). Esta solução apresenta uma concentração de 6mg de hormônio para cada mililitro da solução. O álcool foi utilizado para diluir o hormônio, já que este é insolúvel em água. A solução estoque foi armazenada numa garrafa de cor âmbar e mantida sob refrigeração. Quando armazenada nestas condições, a solução estoque tem vida útil de até 6 meses. Esta quantidade é suficiente para reverter aproximadamente 300.000 pós-larvas.

No preparo da ração usada para reversão sexual das pós-larvas, adotou-se o seguinte procedimento: retirou-se 10ml da solução estoque, os quais foram resuspendidos em 500ml de álcool etílico comercial (56-70%); com este volume de álcool a ração foi umedecida, incorporando de forma homogênea (Figura 16), o hormônio (60mg) contido nos 10mL necessários para preparar um 1kg de ração; após a homogeneização, a ração foi deixada à

sombra, formando uma camada de no máximo, 2 a 3cm, por 48 horas, para que ocorra à evaporação do álcool, sem qualquer incidência da luz solar sobre a mesma; em seguida, a ração foi passada em uma peneira de malha de 0,6mm, embalada, armazenada e mantida sob refrigeração; nestas condições a ração se mantém própria para o consumo por até 3 meses (KUBITZA, 2002).



Figura 16. Homogeneização da ração com o hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona para reversão sexual de pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), utilizada no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

### 3.2.7. Teste da reversão sexual

O método utilizado no CPAq para avaliação da eficiência da reversão sexual é a visualização das gônadas em microscópio ou lupa. Para o teste, foi separado um lote de 200 alevinos pós-revertidos e colocados em viveiro de alevinagem, até atingirem comprimento superior a 5cm, ou após 7 a 15 dias do termino do tratamento com hormônio 17  $\alpha$  metiltestosterona (POPMA ; GREEM,1990). Ao atingirem o comprimento adequado os alevinos foram submetidos a jejum de 24 a 48 horas, e após esse período, todos os indivíduos foram sacrificados e realizados cortes histológicos para a remoção das gônadas. A remoção das gônadas foi realizada com auxilio de uma pinça, de forma delicada para evitar injurias nas mesmas, e foram colocadas em uma

lâmina, adicionadas algumas gotas de aceto-carmim e coberto por uma lamínula (POPMA; GREEM, 1990)

Segundo Kubitza (2002), as gônadas que apresentavam ovócitos, vistos ao microscópio como uma estrutura com formato arredondada, foram identificadas como sendo provenientes de uma fêmea. As gônadas que apresentavam parte com ovócitos e parte com células granulares (como uma massa arenosa) denotavam um indivíduo intersexo, ou seja, metade das gônadas feminina e a outra metade masculina, indicando reversão incompleta. A presença de células granulares por toda a gônada indicava um exemplar macho (Figura 17). Ainda, segundo o mesmo autor, para maior segurança da análise do teste de reversão devem ser checadas as duas gônadas de um mesmo indivíduo.

Ao termino da análise foi verificada uma taxa de reversão sexual, para o lote, da ordem de 98% de machos, demonstrando a eficiência do método em questão.

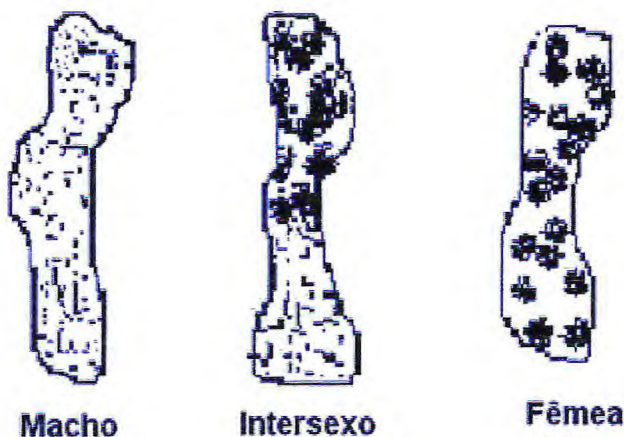


Figura 17 - Esquema de Identificação das gônadas no teste de reversão sexual de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), realizado no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

### 3.2.8. Comercialização

Terminado o período da reversão sexual, os alevinos foram despescados e submetidos a uma seleção por tamanho, através de um selecionador com três aberturas de malhas diferentes (5,0mm, 4,0mm e de 1,5mm) e estocados nos tanques de expedição. Os alevinos que ficavam retidos na malha de 5,0mm, apresentavam tamanhos na faixa de 3,0 a 5,0cm e pesavam entre 1,2 a 2,2g, e estavam prontos para serem comercializados.

Os alevinos que ficavam retidos na malha de 4,0mm apresentavam tamanhos variando de 2,5 a 4,0cm, pesavam de 0,5 a 1,2g e podiam ser comercializadas de imediato, ou serem alimentados por mais uma semana, com ração sem hormônio, até atingirem o peso ideal para a venda (Figura 18).

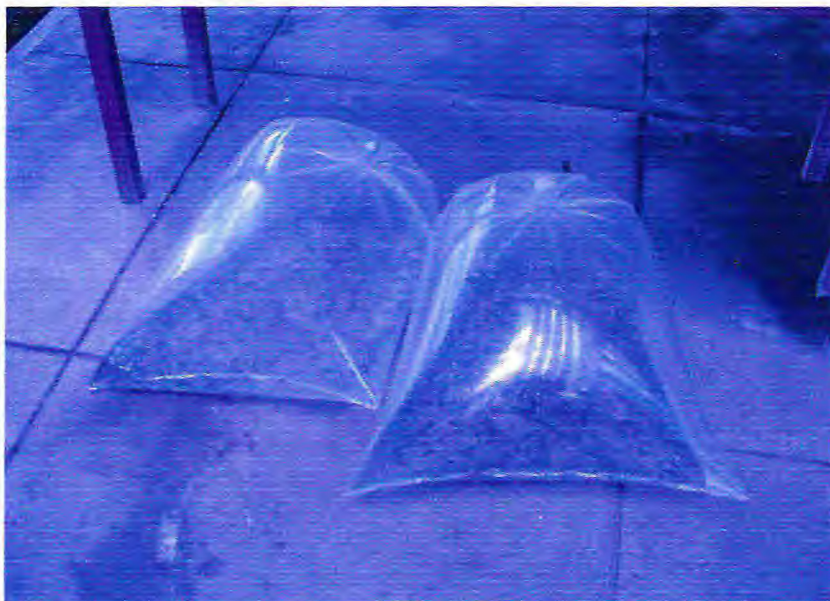


Figura 18 - Alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), acondicionados para comercialização, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

Os alevinos que ao final da reversão apresentavam tamanhos inferiores a 2,5cm foram descartados, pois havia grandes possibilidades da existência de fêmeas e/ou de indivíduos intersexo. Durante o Estágio foi observado que esse descarte não ultrapassou os 5% dos lotes testados.

No ato da venda, os alevinos foram colocados em sacos plásticos com capacidade para 90L, contendo 20% de água ( $\pm$  10L de água, oxigênio e sal na

medida de um copo descartável de café). Em cada saco foram colocados 1000 alevinos de 1g de peso médio.

### 3.3. Reprodução induzida do tambaqui

#### 3.3.1. Seleção dos reprodutores

A escolha dos reprodutores foi realizada no viveiro com dimensão de 2.500m<sup>2</sup> (Figura 19), através de despesca com rede de arrasto. Após uma análise visual, foram separadas 07 fêmeas e 04 machos que, aparentemente, estavam maduros sexualmente.

As fêmeas selecionadas foram aquelas que apresentavam o ventre abaulado, a papila urogenital intumescida e com o abdômen proeminente e moderadamente flácido (Figura 20). Os machos selecionados foram aqueles que liberavam esperma sob leve compressão do abdômen. Essa seleção foi realizada nas primeiras horas do dia e a quantidade de indivíduos selecionados ficou condicionada ao estágio de maturação do plantel e da disponibilidade de instalações a serem povoadas pelas pós-larvas. Após a seleção, os peixes foram transportados para o galpão e estocados em tanques de manipulação.



Figura 19. Seleção dos reprodutores de Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE





Figura 20. Fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) selecionada para reprodução induzida apresentando papila urogenital intumescida, no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

### 3.3.2. Pesagem e marcação

Para selecionar as fêmeas através da sondagem ovariana as mesmas foram pesadas e marcadas. A marcação foi feita com uma cânula de polietileno, onde estava gravado o número que identificava a fêmea. A marcação também foi utilizada para fazer a relação com o número da placa de petri onde estavam os ovócitos coletados para análise, com a respectiva fêmea, como também, para controlar a aplicação das doses hormonais. O peso foi utilizado para calcular a quantidade de hipófise a ser aplicada em cada fêmea.

### 3.3.3. Sondagem ovariana

As fêmeas foram submetidas a uma sondagem ovariana (Figura 21), que consistiu na introdução de uma sonda no oviduto, tendo uma seringa acoplada na outra extremidade e, por sucção, foi extraída uma amostra de ovócitos para identificação do estágio de maturação. Uma vez retirados, os ovócitos foram colocados em uma placa de Petri e fixados com a solução de Serra, que

consiste em 60% de álcool; 30% de formalina e 10% de ácido acético e que, ao ser colocado sob os ovócitos, promove o clareamento dos mesmos, permitindo uma melhor visualização do núcleo no microscópio ou lupa. As fêmeas que possuíam ovócitos centralizados acima de 70% foram consideradas aptas a serem submetidas ao processo de indução hormonal.

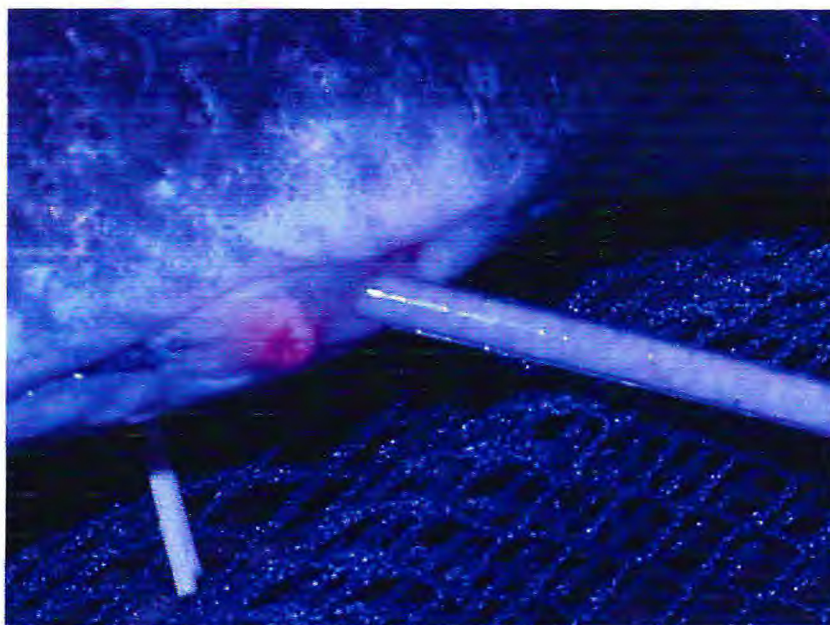


Figura 21. Sondagem ovariana realizada em fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

Após a sondagem ovariana, machos e fêmeas selecionados foram devolvidos aos tanques de manipulação. Para a indução das fêmeas à ovulação, geralmente são administradas duas doses de hormônios hipofisários, diluídos em soro fisiológico (0,75% de NaCl) e nos machos apenas uma dose.

#### **3.3.4. Hipofisação**

Após a sondagem ovariana, somente as fêmeas **2** e **7** apresentavam-se aptas a receberem a primeira dose de hipófise. O cálculo das doses a serem administradas varia de acordo com o sexo e peso dos indivíduos. Para as fêmeas, foram utilizadas 6mg de hipófise seca para cada 1 kg de peixe, divididas em duas doses sendo que a primeira foi apenas para estimular a ovulação e correspondeu a 10% da dose total (tabela1). Para os machos,

foram utilizadas apenas 2,0 mg de hipófise seca para cada 1 kg de peixe, como dose única (Tabela 2) sendo aplicada, concomitantemente, com a segunda dose das fêmeas (KUBTIZA, 2004). Para a primeira dose a ser aplicada nas fêmeas, foi calculado 4,70 e 6,68 mg de hipófises para as fêmeas números 2 e 7, respectivamente.

Tabela 1. Cálculo das doses hormonais para as fêmeas.

| Fêmeas | Peso (kg) | Marcação | DT(100%)mg | DI (10%)mg | DF(90 %)mg |
|--------|-----------|----------|------------|------------|------------|
| 2      | 7,960     | 2368     | 47,80      | 4,78       | 43,00      |
| 7      | 11,140    | 1434     | 66,80      | 6,68       | 60,00      |
| TOTAL  | 19,10     |          |            |            |            |

Legenda: DT: Dose total; DI: Dose inicial; DF: Dose final.

Tabela 2. Cálculo da dose hormonal para os machos.

| Machos | Peso (kg) | DU (100%) mg |
|--------|-----------|--------------|
| 1      | 5,90      | 11,80        |
| 2      | 6,20      | 12,40        |
| 3      | 5,80      | 11,60        |
| 4      | 6,00      | 12,00        |

Legenda: DU: Dose Única

Após os cálculos, as hipófises foram colocadas em um almofariz, sem umidade e com auxílio de um pistilo e algumas gotas de glicerina, foram maceradas, e em seguida adicionado 0,5mL/kg de peixe vivo de soro fisiológico (0,75% de NaCl) (WOYNAROVICH ; HORVÁTH,1983).

As doses, geralmente são aplicadas logo abaixo da nadadeira peitoral para evitar refluxo e o entupimento da agulha. O intervalo entre uma aplicação e outra pode variar de 8 a 12 h. A segunda dose foi aplicada 12 horas após a aplicação da primeira. Os peixes foram retirados dos tanques de manipulação com auxílio de um puçá e foram sedados por imersão, em uma solução de água com óleo de cravo da Índia, por aproximadamente 2 minutos. Em seguida, os peixes foram levados para a mesa de hipofisação, foi colocado um pano na região da cabeça dos mesmos, para que ficassem imobilizados, evitando algum incidente no momento em que recebiam o hormônio. Em

seguida foi feita a sutura nas fêmeas, em forma de Z (Figura 22). Esse formato favorece a soltura do ponto no momento da extrusão, causando menos injúrias às fêmeas.



Figura 22. Sutura em Z de uma fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) por ocasião da aplicação da 2ª dose hormonal no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

Após a aplicação da segunda dose de hormônio nas fêmeas foi aplicada a dose única nos machos. Nesse momento, os reprodutores foram acondicionados em um mesmo tanque onde permaneceram até a hora da extrusão dos ovócitos. A partir do instante da aplicação da 2ª dose nos peixes, deu-se início ao somatório da hora-grau (Tabela 2), que para o tambaqui corresponde a 240 – 270 horas-grau, para ocorrer a desova. Horas-grau corresponde ao somatório das medições, de hora em hora, das temperaturas da água do tanque onde se encontravam os tambaquis. Esse valor depende da espécie de peixe, do tamanho da fêmea e da temperatura, pois a extrusão é inversamente proporcional a quantidade de Horas - grau (KUBITZA, 2004).

Tabela 2 – Somatório das temperaturas (horas-grau) da água do tanque de manipulação, durante a reprodução induzida dos tambaquis (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

| <b>Horário</b>     | <b>Temperatura ( °C)</b> |
|--------------------|--------------------------|
| 8:15               | 27,2                     |
| 9:15               | 27,7                     |
| 10:15              | 27,7                     |
| 11:15              | 27,8                     |
| 12:15              | 27,9                     |
| 13:15              | 28,5                     |
| 14:15              | 28,5                     |
| 15:15              | 28,4                     |
| 16:15              | 27,8                     |
| <b>Horas– Grau</b> | <b>252,0</b>             |

No somatório das horas-grau para a reprodução induzida do tambaqui, com a temperatura variando entre 27,7 a 28,5°C, a desova das fêmeas ocorreu quando o acumulado foi de 252 horas-grau. Esse momento foi identificado porque as fêmeas ficavam mais agitadas, com movimentos bruscos e em seguida ficavam em repouso ou nadavam lateralmente ao longo do tanque e às vezes ficavam bem próximas das laterais do mesmo.

### **3.3.5. Extrusão e fertilização dos ovócitos**

No momento da desova por extrusão, cada fêmea foi colocada sobre a mesa de hipofisação, desfeita a sutura e com leves pressões no abdômen, os ovócitos foram liberados e coletados em uma bacia de plástico. Os ovócitos foram pesados e reservados. Em seguida foram capturados os machos, um de cada vez e foi recolhido sêmen, despejado diretamente sobre os ovócitos contidos na bacia (Figura 23). Ao termino da coleta, todo o material foi homogeneizado e aos poucos foi sendo adicionada água para dar mobilidade aos espermatozóides, pois estes só possuem mobilidade em meio aquoso. Este processo teve duração de 3 min que é o tempo necessário para que todos

os ovócitos sejam fertilizados, antes que ocorra o fechamento da micrópila. Após a fecundação, os ovos permaneceram na bacia por mais 20 minutos para completa hidratação (Figura 24).



Figura 23. Coleta de ovócitos e de sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), realizada no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

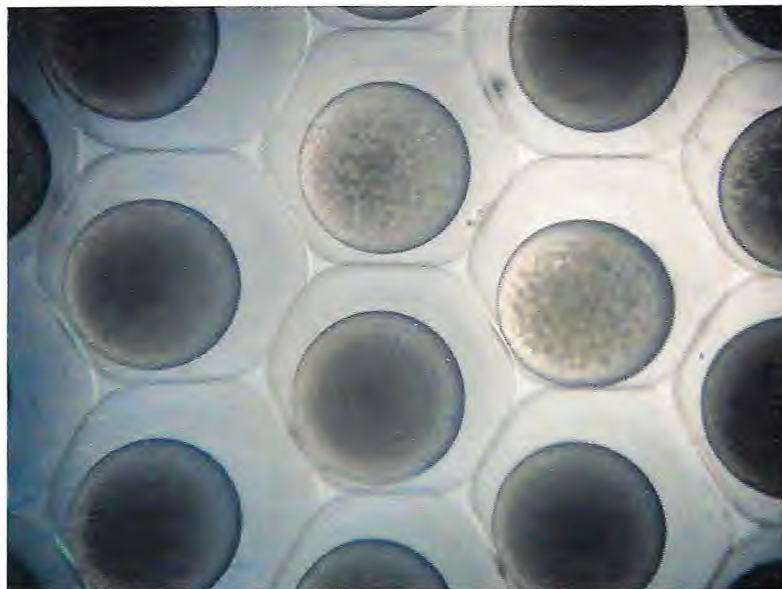


Figura 24. Ovos hidratados de fêmeas de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

### 3.3.6. Incubação dos ovos

As incubadoras utilizadas no CPAq são do tipo Woynarovich, de 60 e de 200L, podendo receber 5ml da quantidade de ovos hidratados (de 4,0 a 4,3mm de diâmetro) por cada litro de água (Figura 25), (ARAÚJO-LIMA; GOMES, 2005). Cada incubadora de 60L recebeu 200ml do material hidratado. As incubadoras possuíam fluxo contínuo de água, para suprir os requerimentos de oxigênio pelos ovos em desenvolvimento. Nesse momento foi coletada a primeira amostra de ovos, com o auxílio de uma pipeta e colocados em placa de Petri para serem visualizados, analisados e fotografados. Essas observações se repetiram a cada hora para acompanhar o desenvolvimento embrionário conforme mostra a Figura 26.



Figura 25. Incubadoras de 60L utilizadas para a estocagem dos ovos de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818), no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE

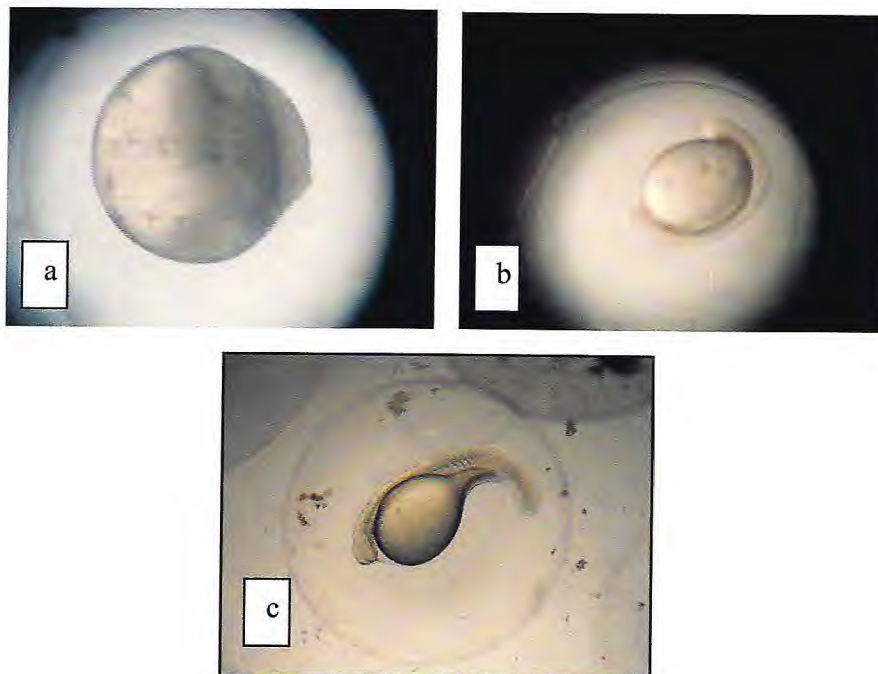


Figura 26. Desenvolvimento embrionário na fase inicial (a), intermediária (b) e final (c), observadas e fotografadas no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering – CPAq - DNOCS, Pentecoste – CE



A eclosão dos ovos ocorreu 12 horas após a fecundação, e a taxa de eclosão foi estimada em 60%. Após a eclosão, as larvas permaneceram nas incubadoras por 4 dias, período necessário para a absorção das reservas vitelínicas. Nesse período, as incubadoras foram limpas pelo processo de sifonação com a utilização de uma mangueira, para evitar a proliferação de fungos e protozoários.

### **3.3.7. Povoamento dos viveiros de alevinagem**

Após a absorção do saco vitelino, as pós-larvas foram retiradas das incubadoras com o auxílio de um sifão, colocadas em baldes plásticos cobertos por tela e transferidas para os viveiros de alevinagem. Os viveiros foram previamente preparados para serem povoados pelas comunidades planctônicas, principalmente náuplios de copépodos, pequenos cladóceros e rotíferos, que se constituem no alimento mais importante nessa fase (WOYNAROVICH ; HORVÁTH,1983).

A partir do segundo dia do povoamento dos viveiros, iniciou-se o fornecimento de ração em pó balanceada com 55% PB, numa frequência de 6 tratos (refeições) diários.

A densidade de estocagem utilizada no CPAq foi de 100 pós-larvas/m<sup>2</sup>, sendo determinada por contagem. Foi coletada uma amostra de 1ml das pós-larvas que estavam nos baldes, contadas e por extrapolação obteve-se a quantidade aproximada do número de pós-larvas. A taxa de sobrevivência observada na alevinagem ficou em torno de 30%, sendo considerada normal.

### **3.3.8. Comercialização**

A alevinagem das pós-larvas de tambaqui durou quatro semanas e ao final deste período pesavam aproximadamente 1g e estavam prontos para ser comercializados.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No estágio supervisionado realizado no Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering- DONCS – Pentecoste, Ceará, foram acompanhadas as duas técnicas mais importantes, atualmente, utilizadas para a produção de proteína animal de boa qualidade, a reversão sexual e a hipofiseção. A combinação de novas técnicas, a seleção genética e manipulação, utilizada pelo CPAq mostra que essas duas técnicas estão dominadas e são realizadas com sucesso por essa instituição que é, atualmente, considerada ponto de referência estadual. O acompanhamento dessas atividades contribuiu para acumular conhecimento e para por em prática à teoria vista em sala de aula, sendo de grande importância para a formação do estudante de Engenharia de Pesca.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L. C. Tambaqui. In: BALDISSEROTO, B. GOMES, L. C. (Org.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2005. Cap.8, p.171-193.

CASTAGNOLLI, N. Estado da arte da aqüicultura brasileira. In: CYPRINO, C. F. et al **Tópicos especiais de piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. Cap.1. p.1-23.

CESAR, M. P. et al. Métodos para obtenção de população monosexo na piscicultura. **Boletim Agropecuário**, Lavras/MG, n.69, p.1-27, 2006.

CONOMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Resolução nº 20, datada de 18/07/1986, publicada no Diário Oficial da União – DOU em 30/07/1986. Consulta feita no dia 28/11/2007 no site: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>

GUIMARÃES, S. F. Alguns aspectos da aqüicultura interior na região Norte do Brasil com ênfase na criação de tambaqui, *Colossoma macropomum* e pirapitinga, *Piaractus brachypomus*. In:IBAMA. **Criação de Colossoma e piaractus no Brasil**. Brasília: Edições IBAMA, 1999. p.63-106.

HAZIN, F.; PEREZ, J. A. TRAVASSOS, P. Nossas riquezas no mar. In: BRASIL. Ministério da Educação. **O mar no espaço geográfico brasileiro**. Brasília, 2006. v.8. p.135-146.

KUBTIZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.14, n.82, p.27-39, março/abril. 2004.

KUBTIZA, F. **Curso avançado em piscicultura – 2002**: reversão sexual de tilápia. Propriá -SE : 2002. 71p.

KUBTIZA, F. “O mar está pra peixe... pra peixe cultivado”. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.17, n.100, p. 14 – 23, mar/abril. 2007

KUBTIZA, F.; ONO, E. A.; CAMPOS, J.L. Os caminhos da produção de peixes nativos no Brasil: uma análise da produção e obstáculos da piscicultura. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.17, n.102, p.14 – 23 jul./ago. 2007.

KUBTIZA, F. **Tilápia**: tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí, SP: 2000. 285p.

MARTINS, R. R. **Efeitos de diferentes rações sobre a fecundidade de fêmeas de tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (pisces, characidae), em cativeiro.** 1997. 83f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.

MATOS, A. R. B. **Análise da produção de alevinos revertidos de tilápias, *Oreochromis spp*, no estado do Ceará.** 2003. 94f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

MESQUITA, M. S. C. **Relatório das atividades de Centro de Pesquisas em Aqüicultura Rodolpho von Ihering (CP/CPA).** Pentecoste, Ce: 2005.

MESQUITA, P. E. C. **Curso teórico sobre aqüicultura continental.** Pentecoste, Ce: Centro de Pesquisas em Aqüicultura, DNOCS, 2002. 152p.

NOBRE, M. I. S. **Curso teórico sobre aqüicultura continental.** Pentecoste, Ce: Centro de Pesquisas em Aqüicultura, DNOCS, 2002. 152p.

POPMA, T. J.; GREEN, B. W. **Sex reversal of tilapia in earthen ponds.** Auburn Alabama : International Center for Aquaculture, 1990. (Research and Development Series, n. 35) 15p.

POPMA, T. J.; LOSVHIN, L. L. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia.** Auburn, Alabama: International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, 1996. 40p.

SILVA, L. I. L.da. Nordeste, desenvolvimento e justiça social. **Conviver**, Fortaleza, v.2, p.7-9, jan.2004.

SILVA, J.W.B.e; FIGUEIREDO, J.J.C. B. de. Situação da criação de *Colossoma* e *Piaractus* no Nordeste brasileiro: janeiro de 1988 a junho de 1991. In : IBAMA. **Criação de *Colossoma* e *Piaractus* no Brasil.** Brasília: Edições IBAMA, 1999. p.107-148

SOUZA, R. L.M. de. **Cultivo de híbrido 100% macho da tilápia do Zanzibar (*O.hornorum*, Treveros 1983) com a tilápia do Nilo (*O. niloticus*, Linnaeus 1757).** 2002. 74f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

TACON, J.G.A. Produção aqüícola global em 2005 e as estimativas da quantidade de ração utilizada. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.17, n.100, p. 24 – 29, mar./abr., 2007.

WOYNAROVICH, E; HORVÁTIL, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983. 220p.

ZIMMERMAN, S. Incubação artificial (técnica que permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores). **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.9, n.54, p. 15 – 21, jul./ago., 1999.