

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

ESTUDOS REPRODUTIVOS, CITOGENÉTICOS NA
POPULAÇÃO DE *Rhamdia quelen* (PISCES, RHAMDIIDAE) DO RIO
UBERABINHA NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA – MG E
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ARTESANAL DE
RECIRCULAÇÃO D'ÁGUA PARA CRIAÇÃO DE PEIXES.

Luiz Carlos Guilherme

UBERLÂNDIA – MG
Fevereiro – 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica

ESTUDOS REPRODUTIVOS, CITOGENÉTICOS NA
POPULAÇÃO DE *Rhamdia quelen* (PISCES, RHAMDIIDAE) DO RIO
UBERABINHA NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA – MG E
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ARTESANAL DE
RECIRCULAÇÃO D'ÁGUA PARA CRIAÇÃO DE PEIXES.

ALUNO: Luiz Carlos Guilherme

ORIENTADOR: Profa. Dra. Sandra Morelli

Tese apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Genética e
Bioquímica, para obtenção do Título
de Doutor em Genética e Bioquímica.

UBERLÂNDIA – MG
Fevereiro - 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

TÍTULO

ESTUDOS REPRODUTIVOS, CITOGENÉTICOS NA POPULAÇÃO DE *Rhamdia quelen* (PISCES, RHAMDIIDAE) DO RIO UBERABINHA NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA – MG E DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ARTESANAL DE RECIRCULAÇÃO D'ÁGUA PARA CRIAÇÃO DE PEIXES.

ALUNO: LUIZ CARLOS GUILHERME

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Profa. Dra. Sandra Morelli (Orientadora)

Examinadores: Profa. Dra. Lúcia Giuliano Caetano
 Prof. Dr. Malcon Brandeburgo
 Prof. Dr. Mário Antônio Spannó
 Dr. Willibaldo Brás Sallum

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Tese foram contempladas

Sandra Morelli

Uberlândia, 23/ 02 / 2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborado pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

G956e

Guilherme, Luiz Carlos, 1955-

Estudos reprodutivos, citogenéticos na população de *Rhamdia quelen* (pisces, Rhamdiidae) do Rio Uberabinha no município de Uberlândia - MG e desenvolvimento de sistema artesanal de recirculação d'água para criação de peixes / Luiz Carlos Guilherme. - Uberlândia, 2005.

103f. : il.

Orientador: Sandra Morelli.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Inclui bibliografia.

1. Peixe - Criação - Teses. 2. Peixe - Criação - Uberabinha, Rio (MG) - Teses. 3. Peixe - Reprodução - Uberabinha, Rio (MG) - Teses. 4. Jundiá (Peixe) - Teses. 5. Uberabinha, Rio (MG) - Teses. I. Morelli, Sandra. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 639.3(043.3)

Só não fica velho quem
morre novo,... daqui cem
anos todos estaremos
mortos, inclusive quem
nasceu hoje.

(Papai)

Àqueles que não puderam esperar este momento e partiram durante a realização deste curso: Vovó Ercília, meu pai João Guilherme, vovó Rosalina e Tio Léo.

Às mulheres que me tornaram melhor e aqueles que caminham juntos comigo, meus filhos, minha mãe Iolanda, meus irmãos, sobrinhos, tios, tias, primos e vô César.

AGRADECIMENTOS

A Deus por simplificar as minhas dificuldades.

À amiga Profa. Dra. Sandra Morelli, pelo incentivo, orientação, ensinamentos e maestria com que tem me conduzido.

Aos Doutores, Profa. Dra. Lúcia Giuliano Caetano, Dr. Willibaldo Brás Sallum, Dr. Malcon Brandeburgo, Prof. Dr. Mário Antônio Spanó pela colaboração na Banca Examinadora.

Aos Docentes do Instituto de Genética e Bioquímica, pelos ensinamentos.

Aos Professores, Dr. Malcon Brandeburgo e Dra. Ana Maria Bonetti pela amizade.

Aos colegas orientados do Laboratório de Citogenética em especial à Alessandra Ribeiro Torres, Gisele Andraus de Barcelos, Roosevelt Gonçalves Moreira e ao técnico José Clidenor dos Santos, pela colaboração.

À secretária do Instituto de Genética e Bioquímica Maria Marlene Macedo pela amizade.

Ao Secretário da Coordenação do Programa de Pós Graduação Gerson Fraissat pela amizade.

Aos Professores da Universidade Federal de Uberlândia Dr. José Fernando Pinese e Dr. Noé Ribeiro pelo apoio e amizade.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, pelo auxílio.

À Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade oferecida.

Aos professores, técnicos administrativos e acadêmicos do Instituto de Genética e Bioquímica e Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia, pelo estímulo incessante para meu crescimento.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura do Parque do Sabiá, pelo apoio e amizade.

À FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais pelo apoio financeiro.

ABREVIATURAS

2n	Número diplóide
Atm	Atmosfera
B	Cromossomos supranumerários
cm	Centímetro
G	Taxa de crescimento específico
g	Grama
kcal	Kilocalorias
kg	Kilograma
KH	Dureza de carbonatos
l	Litro
ln	Logaritmo neperiano
m	Metro
m ²	Metro quadrado
m ³	Metro cúbico
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
mm	Milímetro
mol	Molar
N	Número de indivíduos
Ne	Número efetivo de reprodutores
Nf	Número de fêmeas
Nm	Número de machos
NOR	Região Organizadora do Nucléolo
OD	Oxigênio dissolvido
p	Probabilidade
p1	Pai 1
p2	Pai 2
PB	Proteína bruta
PET	Embalagem de plástico descartável para refrigerantes
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
r	Coeficiente de correlação

T1	Tratamento 1
T2	Tratamento 2
T3	Tratamento 3
TAN	Amônia total
T°C	Temperatura graus Celsius
V	Voltz
W	Watz

Lista de Figuras

Figura I.1 – <i>Rhamdia quelen</i> capturados no rio Uberabinha	3
Figura 1.1 – Vista do rio Uberabinha no local denominado curva da Av. Vasconcelos Costa	21
Figura 1.2 - Progenie dos Pais 1 e 2 - Curva da variação fenotípica do comprimento total (mm) em função do peso unitário do peixe (g) aos 25 dias.....	24
Figura 1.3 - Progenie do Pai 1 - Curva da variação fenotípica do comprimento total (mm) em função do peso unitário do peixe (g) aos 25 dias	26
Figura 1.4- Progenie do Pai 2 - Curva da variação fenotípica do comprimento total (mm) em função do peso unitário do peixe (g) aos 25 dias	26
Figura 2.1 - Taxa de sobrevivência de <i>R. quelen</i> nas diversas parcelas experimentais	36
Figura 2.2 – Parâmetros físico-químicos da água.....	37
Figura 2.3 – Variação da temperatura da água.....	38
Figura 3.1 – Ilustração (sem escala) do sistema de produção de peixes montado no Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU	45
Figura 3.2 - Sistema de produção de peixes instalado no Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU.....	46
Figura 3.3 – Material necessário para construção do alimentador automático	47
Figura 3.4 – Detalhes do alimentador automático.....	48
Figura 3.5 – Alimentador automático em funcionamento	48
Figura 3.6 – Detalhes do alimentador automático II.....	49
Figura 3.7 – Comportamento das variáveis físico-químicas da água e consumo de ração na fase de estabilização do sistema, povoado com alevinos de <i>O. niloticus</i>	54
Figura 3.8 – Produção de <i>O. niloticus</i>	55
Figura 3.9 – Repetição criação de <i>O. niloticus</i> (30 dias).....	56
Figura 3.10 – Produção de <i>Clarias gariepinus</i>	58
Figura 3.11– Produção de <i>Leporinus sp</i>	59
Figura 3.12 - Produção alevinos <i>R. quelen</i>	60
Figura 3.13 – Taxa de crescimento instantâneo para as diversas espécies	60
Figura 4.1 – Vista do rio Uberabinha no local denominado Ponte da Av. Getúlio Vargas	71
Figura 4.2- Cariótipos de <i>Ramdia quelem</i>	74
Figura 4.3 - Metáfases de <i>Ramdia quelen</i> com Banda C evidenciando os cromossomos B.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Amplitude das variáveis físico-químicas da água dos tanques 1 e 2 durante a transformação das larvas em alevinos.	23
Tabela 2.1 – Médias de sobrevivência, comprimento total e peso para os 3 tratamentos.....	35
Tabela 2.2 – Comparação entre as médias para os efeitos de pais e tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,001$).	35
Tabela 2.3 – Comparação dos efeitos de interação entre os tratamentos e as variáveis estudadas. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,001$).....	36
Tabela 3.1 – Índices zootécnicos do ensaio com <i>O. niloticus</i>	57
Tabela 3.2 – Índices zootécnicos do ensaio com <i>O. niloticus</i>	61
Tabela 4.1 Frequência do número cromossômico em células metafásicas de <i>R. quelen</i> do rio Uberabinha. ..	73

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
CAPÍTULO 1 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE <i>Rhamdia quelen</i> (PISCES, RHAMDIIDAE): I. INDUÇÃO ARTIFICIAL DA OVULAÇÃO E PRODUÇÃO DE ALEVINOS.....	19
1.1 RESUMO	19
1.2 ABSTRACT	19
1.3 INTRODUÇÃO.....	20
1.4 MATERIAL E MÉTODOS	21
1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
1.6 CONCLUSÕES.....	27
1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
CAPÍTULO 2 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE <i>Rhamdia quelen</i> (PISCES, RHAMDIIDAE): II. EFEITO DE TRÊS DENSIDADES DE ESTOCAGEM NO DESEMPENHO DE JUVENIS DE <i>Rhamdia quelen</i> (PISCES, RHAMDIIDAE) EM TANQUES DE CONCRETO.....	31
2.1 RESUMO	31
2.2 ABSTRACT	31
2.3 INTRODUÇÃO.....	32
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
2.6 CONCLUSÕES.....	38
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO 3 – DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA SIMPLIFICADO DE RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA PARA CRIAÇÃO DE PEIXES.	42
3.1 - RESUMO	42
3.2 - ABSTRACT.....	43
3.3 - INTRODUÇÃO.....	43
3.4 - MATERIAL E MÉTODOS	45
3.4.1 – Adaptação artesanal do Sistema de Recirculação, Reator Aeróbio e Tanque para Criação de Peixes.	45
3.4.2 - Adaptação de garrafas PET para confecção de alimentadores para peixes.....	46
3.4.3 - Operação do sistema:.....	49
3.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
3.5.1 - Ensaios de produção com tilápias (<i>O. niloticus</i>).....	53
3.5.2 - Ensaio de produção com bagre africano (<i>Clarias gariepinus</i>).....	58
3.5.3 - Ensaios de produção com o Piavuçu (<i>Leporinus sp</i>):	58
3.5.4 - Ensaio de produção do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	59
3.6 - CONCLUSÕES.....	63
3.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 4 - PRESENÇA DE CROMOSSOMOS B EM UMA POPULAÇÃO DE <i>Rhamdia quelen</i> (PISCES, RHAMDIIDAE) DO RIO UBERABINHA NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA – MG.....	67
4.1 - RESUMO	67
4.2 - ABSTRACT.....	68
4.3 - INTRODUÇÃO.....	68
4.4 - MATERIAL E MÉTODOS	71
4.5 - RESULTADOS.....	72
4.6 - DISCUSSÃO.....	75
4.7 - CONCLUSÕES.....	78
4.8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXO I.....	82
INDUÇÃO DE MITOSES	82
OBTENÇÃO DE CROMOSSOMOS MITÓTICOS.....	82
Tratamento <i>in vitro</i>	82
Preparações diretas.....	83

BANDAMENTOS CROMOSSÔMICOS	84
<i>Detecção das Regiões Organizadoras de Nucléolos (NORs)</i>	84
<i>Detecção da Heterocromatina Constitutiva – Banda C</i>	85

RESUMO GERAL

O rio Uberabinha em Uberlândia – MG, na área com predomínio urbano, apresenta na composição da sua ictiofauna, um número expressivo de espécies de peixes. Destaca-se o *Rhamdia quelen* (jundiá) como sobrevivente ao processo de crescimento da cidade e conseqüente poluição. Esta espécie desempenha importante papel ecológico, é consumida por parte da população e parece ser promissora para a piscicultura regional. O estudo sobre alguns aspectos de interesse zootécnico e biológico desta espécie, destacando-se a indução artificial da ovulação e produção de alevinos a partir de reprodutores capturados no leito do rio; avaliação do efeito dos pais através da progênie criada em três densidades de estocagem; conhecer o desempenho de um sistema para criação de peixes com recirculação da água e tratamento biológico dos resíduos metabólicos e estudar aspectos da citogenética nesta população são objetivos deste trabalho. A resposta à indução da ovulação e conseqüente reprodução artificial foi positiva e pode-se obter um grande número de alevinos viáveis com variabilidade fenotípica acentuada nos caracteres estudados. O experimento realizado para se conhecer o efeito dos pais através da progênie criada em três densidades de estocagem durou 127 dias. Não houve diferença significativa entre pais para comprimento ($p>0,01$) e peso ($p>0,01$). As diferenças nas médias de sobrevivência foram estatisticamente significativas para densidade e pais. A interação entre pais e densidade foi significativa para comprimento, peso e sobrevivência ($p<0,01$). Foi construído um sistema de produção de peixes constituído por uma caixa de fibra de vidro acoplada a um reator aeróbio para eliminação dos resíduos metabólicos e dois modelos de alimentadores. Tanto o reator aeróbio quanto os alimentadores foram feitos artesanalmente. Devido à praticidade de manejo, baixo custo e facilidade de construção, o uso deste sistema de recirculação para produção de pescado acoplado a reator aeróbio e alimentador, podem ser recomendados para atividades desenvolvidas nos laboratórios de pesquisa, unidades de produção de alevinos, criação familiar. Na padronização do sistema usou-se a tilápia, *Oreochromis niloticus*, por se tratar de uma espécie criada mundialmente e por serem conhecidos os parâmetros de amônia total (TAN), oxigênio dissolvido (OD),

temperatura, alcalinidade e pH, para o seu melhor desempenho, sendo considerada excelente para crescimento neste sistema. O seu cultivo teve a duração de 260 dias, em sete ensaios. Nos seis primeiros o peso inicial médio foi de 1,5g e obteve-se uma produção líquida acumulada de 11,345kg equivalentes a 55,013kg / m³ /ano. No sétimo ensaio, os alevinos de tilápia com peso inicial de 1,19g teve duração de 30 dias e resultou em 1,018kg líquidos equivalentes 38,170kg/ m³ /ano. *Rhamdia quelen* (jundiá), *Clarias gariepinus* (bagre africano) e *Leporinus* sp (piavuçu) também foram criados. A citogenética foi utilizada como ferramenta de análise para compreensão das alterações ocorridas no número e na estrutura cromossômica. O cariótipo de *R. quelen* é composto por 2n=58 cromossomos (26M + 20SM + 8ST + 4A) com zero a sete cromossomos B que, marcados pela técnica da banda C, mostraram-se total ou parcialmente heterocromáticos. A caracterização dos cromossomos com regiões organizadoras de nucléolo, por meio da impregnação pelo nitrato de Prata evidenciou a presença de um par de cromossomos metacêntricos portador da Região Organizadora do Nucléolo (NOR), com polimorfismo no tamanho da mesma.

Palavras chaves: *Rhamdia quelen*, recirculação de água, reprodução de peixes, citogenética, cromossomos B.

Abstract

The Uberabinha river in Uberlândia – MG, with an urban area predominancy, in its ichthyofauna composition, presents an expressive fish specimens number. It is detached *Rhamdia quelen* (Jundiá catfish) as a survivor to the city development process and consequently to the pollution. This specie perform an important ecological role, it is eaten up by part of the population and it seems to be promissory for the regional fish culture. The study of some zootechnical and biological aspects of interest about the specie, detaching the artificial induction of ovulation and fry production from captured reproducers directly from the bed of the river; the evaluation of parent's effects through out the progeny raised in three different stocking densities; knowing the performance of a fish breeding system

with water recirculation and biological treatment of metabolic residues and study the cytogenetic aspects in this population are the purposes of this paper. The answer for the ovulation induction and consequently the artificial reproduction were positive and could be obtained a great viable fry number with a pronounced variability in the studied characters. The experiment done to show the parent's effects throughout the progeny raised in three stocking densities lasted 127 days. It has been observed that it didn't have a significative effect between parents concerning length ($p>0.01$) and weight ($p>0.01$). The average survival differences were statistically significant for density and parents. The interaction between parents and density was significant concerning length, weight and survival ($p<0,01$). It has been built a fish system production using a glass fiber box attached to an aerobic reactor for metabolic residues elimination and two models of automatic feeders. Not only the aerobic reactor but also the automatic feeders were done manually. Due to the practical handling, low price and building facilities, the use of this recirculation system for fish production attached to an aerobic reactor and automatic feeder can be recommended for activities developed in research laboratories, fry production unites and familiar breeding. In the system standardization it has been used the tilapia, *Oreochromis niloticus*, because it is a world wide breed specie, and because the ammonia parameters (TAN), dissolved oxygen (OD), temperature, alkalinity and pH are known for its better performance and being considered to have an excellent growing in this system (EBELING et al., 1995). Its cultivation lasted 260 days using seven trials. In the first six trials the average inicial weight was 1.5g and obtained a net production of 11,345kg, something equal in value of 55,013 kg / m³ / year. In the seventh trial the tilapia's fries with an inical weight of 1.19g lasting 30 thirty days resulted in 1,018Kg netweight of equal value 38,170 kg/ m³ / year. *Rhamdia quelen* (jundiá catfish), *Clarias gariepinus* (african catfish) and *Leporinus sp* (piavuçu), also have been bred. The cytogenetic constitutes an excellent analysis tool to understand the alterations occurred in the chromosomic number and structure. The *R. quelen* karyotype is composed of 2n=58 chromosomes (26M + 20SM + 8ST + 4A) ranging from zero to seven B chromosomes which ones were stained using the C banding technique and showed themselves total or partially heterochromatic. The

chromosomes characterization with Nuclear Organizing Regions, throughout Silver nitrate staining evidenced the presence of one chromosome methacentric pair presenting the Nuclear Organizing Region (NOR), with size polymorphism in its constitution.

Key words: *Rhamdia quelen*, water recirculation, fish production, cytogenetic, B chromosome.

INTRODUÇÃO GERAL

O município de Uberlândia, no estado de Minas Gerais (MG), aos 115 anos, conta com aproximadamente 600.000 habitantes. Cerca de 50% do crescimento populacional ocorreu nos últimos 20 anos e desenvolveu-se às margens do rio Uberabinha, que vem atendendo às necessidades do fornecimento de água para a população. O rio Uberabinha, como a maioria dos rios que correm às margens das cidades em desenvolvimento, sofre alterações, em função direta do aumento do nível de descargas poluentes lançadas no seu leito. Enquanto ocorrem mudanças na composição química da água, há também uma redução nos limiares de sobrevivência das diversas espécies que o habitam (BRANCO, 1970ab). A partir de 2003, todo o esgoto orgânico lançado no rio Uberabinha passou a ser recolhido e tratado biologicamente, restando apenas aqueles de caráter clandestino, ilegal e de difícil detecção (Eduardo Bevilaqua ex-Secretário do meio ambiente da Prefeitura Municipal de Uberlândia – MG, informação pessoal). Com a ativação da Estação de Tratamento de Esgotos para receber os efluentes domésticos e industriais produzidos nos bairros, outro impacto começa a ocorrer no restabelecimento das condições originais.

Brites e Rantin (2004ab), descrevem a área urbanizada do rio Uberabinha como a de menor conservação em relação a vegetação das margens, umidade relativa do ar mais baixa, água com maiores concentrações de sólidos totais dissolvidos, de sólidos suspensos, de nitritos, maior condutividade elétrica, maior turbidez, maior variedade de microorganismos e de resíduos organoclorados quando comparada com a área agropecuária, que, no entanto, apresentou índices do inseticida organofosforado endossufan e do herbicida atrazina mais elevados.

Mesmo recebendo constantes descargas de poluentes, o rio Uberabinha apresenta uma comunidade faunística resistente a esta situação adversa. A região central da cidade, no trecho compreendido entre a ponte do Praia Clube e a ponte do Vau (passagem para o Bairro Luizote de Freitas) apresenta-se com vários trechos de remansos intercalados de cascadeamento. A comunidade faunística é formada por espécies introduzidas e nativas deste rio tais como: o cágado *Phrynops geoffroanus*, várias espécies de aves e os peixes: *Hoplias*

lacierdae (trairão), *Rhamdia quelen* (jundiá), *Lebistes reticulatus* (barrigudinho), *Cyprinus carpio* (carpa comum), *Oreochromis niloticus* (tilápia nilótica), *Tilapia rendalii* (tilápia), *Hypostomus sp* (cascudo), *Geophagus brasiliensis* e *Cichlasoma paranaense* (acarás), entre outras.

O peixe *Rhamdia quelen* (Figura I.1), apresenta hábito alimentar onívoro (GUEDES, 1980; MOTTA et al., 1985) possui corpo nu, aberturas branquiais amplas e, freqüentemente, nadadeiras peitorais e nadadeira dorsal precedidas por um acúleo (SILFVERGRIP, 1996 apud GOMES et al., 2000). Este peixe é encontrado desde o centro da Argentina até o sul do México (GOMES et al., 2000) e é conhecido popularmente como jundiá ou lobó. Presente na bacia do rio Uberabinha, no seu estado selvagem, adaptou-se às mudanças que ocorreram em função do desenvolvimento industrial e urbano da cidade. Seu comportamento reprodutivo é assemelhado ao de muitas espécies de água doce (GOMES et al., 2000). Os cardumes quando atingem a maturidade sexual, não apresentam cuidados parentais e procuram lugares de água rasa, limpa, pouco corrente e com fundo pedregoso onde realizam a desova. Pertenciam à família Pimelodidae que agrupa formas muito diversificadas, algumas com poucos cm de comprimento e outras com mais de 2m de comprimento (BRITISKI et al., 1984), atualmente, os peixes, pertencentes ao gênero *Rhamdia*, foram agrupados em uma nova família denominada Rhamdiidae (PINNA, 1993 apud SWARÇA et al., 2000).

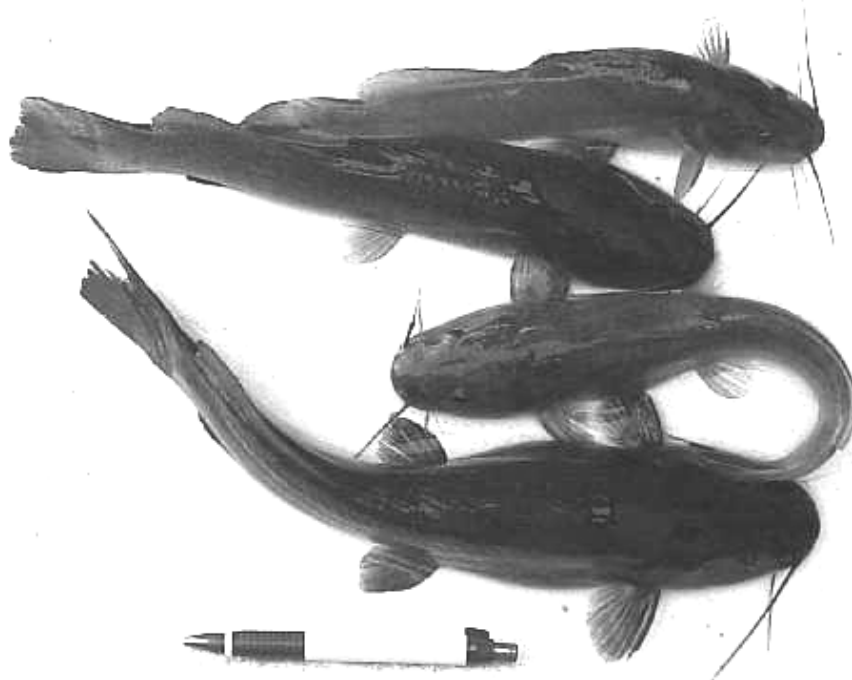


Figura I.1 – *Rhamdia quelen* capturados no rio Uberabinha

É fato corrente no Estado de Minas Gerais, uma associação entre órgãos públicos responsáveis por povoamento e repovoamento de rios ou barragens e piscicultores produtores de alevinos. Os órgãos públicos realizam a manutenção de matrizes das espécies de interesse de ambos e são responsáveis pela reprodução artificial. Aos piscicultores cabe a criação das larvas até a formação de alevinos e juvenis. Geralmente, após esta fase, ocorre a partilha da produção. A parte que retorna à Estação de Piscicultura é destinada ao povoamento das barragens e rios. A porção dos piscicultores normalmente é criada e consumida na propriedade ou comercializada para outros produtores de diversas regiões. Desta forma, ocorre uma melhor distribuição dos custos de produção para ambos. O produtor rural recebe melhor assistência técnica, fornecida pelas empresas estatais através do seu pessoal devidamente qualificado. As empresas aumentam sua área para criação dos alevinos e juvenis, reduzindo custos com mão-de-obra e alimentação. Esta simbiose parece perfeita. No entanto, existe discrepância na ação, uma vez que os objetivos reais de cada parte são antagônicos.

Para as empresas que executam estes programas, o êxito consiste em obter animais que apresentem características biológicas para manutenção da variabilidade genética e flexibilidade fenotípica encontradas na população natural.

A quantidade de variabilidade genética (heterozigose) que permanece após a redução da população natural para N indivíduos pode ser expressa pela fórmula $1-1/2N$. Por exemplo, um estoque fundador com cinco casais ($N=10$) contém 95% da variabilidade genética total existente no estoque selvagem original, ou seja, houve uma perda de 5%. No entanto, a perda de alelos é importante principalmente para aqueles com baixa frequência. Para que um alelo com frequência de 5%, esteja presente com 95% de probabilidade, o número efetivo de reprodutores deve ser de 15 fêmeas e 15 machos. O número absoluto para a formação do estoque de reprodutores deverá ser de no mínimo 25 machos e 25 fêmeas (FRANKLIN, 1980 apud PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A melhor alternativa seria capturar os exemplares no período de maturação sexual no próprio leito do rio, ao invés de mantê-los estocados artificialmente. Exemplares que apresentem deformidades morfológicas óbvias, como ausência de opérculos, nadadeiras, etc., devem ser descartados. A proporção sexual de 50% de fêmeas para 50% de machos, quando possível, deve ser mantida a fim de que se conserve a variabilidade genética existente na população selvagem doadora (TOLEDO-FILHO, 1992, TOLEDO-FILHO et. al., 1992).

A reprodução artificial deve ser conduzida de modo a maximizar os valores do número efetivo de reprodutores (N_e). O N_e depende não só do número de reprodutores efetivamente usados, mas também da proporção sexual deles. Os valores de N_e podem ser estimados através da expressão $N_e = (4 \times N_f \times N_m) / (N_f + N_m)$ onde N_f e N_m representam, respectivamente, o número de fêmeas e machos efetivamente usados para a produção (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

O valor de N_e pode ser aumentado, quer ampliando-se N_f e N_m quer ajustando-se as proporções sexuais dos reprodutores para próximo de 50% de fêmeas e 50% de machos (TOLEDO-FILHO, 1992, TOLEDO-FILHO et. al., 1992). Portanto, realiza-se o maior número de cruzamentos operacionalmente possível, independentes da quota de alevinos que se possa obter, minimizando a taxa de consangüinidade e do fenômeno da deriva genética, devido à possibilidade de que os indivíduos escolhidos para reprodutores não constituam amostra

geneticamente representativa do estoque selvagem. Praticamente, consiste em dividir a desova de cada fêmea em partes iguais e, a seguir, fertilizar cada uma das amostras em separado, com o esperma de um macho diferente, o que permite manter valores de N_e dentro do esperado. Deve-se também misturar quantidades de alevinos de progênes diferentes. A escassez de informação e material genético adequado tem provocado práticas incorretas de peixamento que resultam num afunilamento da variabilidade genética das populações de peixes introduzidos.

Os alevinos destinados à criação intensiva estão sujeitos a métodos de seleção e melhoramento genético adequados, uma vez que para o piscicultor interessa que o peixe apresente características zootécnicas homogêneas e definidas pela melhor adaptação à alimentação artificial, capacidade de suportar densidade elevada na engorda, com crescimento uniforme e rapidez no desenvolvimento, com melhor rendimento de carcaça.

Os projetos de engorda de peixes são executados, pelo produtor rural, em tanques de terra escavados em locais que possam aproveitar a captação de água das nascentes. O uso da água e a localização dos tanques de piscicultura, em áreas de preservação permanente, são questionados pelas autoridades e ambientalistas, quanto aos resíduos solúveis e matéria orgânica carregados para os córregos e, ainda, pelas modificações no solo que prejudicam a natureza. Às vezes, a água das nascentes é desviada ou é necessário construir pequenas barragens para elevar o nível e facilitar sua distribuição. Esta geralmente é feita nos tanques por derivação, de modo que cada tanque possui um sistema de entrada e saída individual, que facilitam a drenagem dos resíduos orgânicos produzidos pelo metabolismo ou excesso de alimentação (BARKER, 1970, TEIXEIRA et al., 1989).

A produção de peixes por unidade de área é uma função da taxa de crescimento individual e da densidade (PIAIA et al., 2000). Fatores intrínsecos como característica genética, estado fisiológico e fatores ambientais como a temperatura, composição química da água, do solo, nível de metabólitos, oxigênio dissolvido e alimento disponível, podem influenciar na taxa de crescimento

individual e na capacidade de carga, que é o momento em que o alimento disponível é apenas suficiente para manter os peixes, mas insuficiente para permitir o seu crescimento (HEPHER; PRUGINIM, 1985).

A matéria seca dos alimentos não digeridos e fezes são as principais fontes de resíduos sólidos produzidos na aquicultura. A quantidade estimada fica entre 26% e 46% do total do alimento fornecido. Esta grande diferença é devido aos vários alimentos e ao manejo (EBELING et al., 1995).

Ebeling et al. (1995), afirmaram que a porção do alimento não utilizada pelo peixe é excretada como resíduo orgânico na forma de sólidos fecais. Estes sólidos fecais, juntamente com os resíduos de alimento não ingeridos, são metabolizados pelas bactérias, poluindo a água. Estas partículas devem ser eliminadas, por possibilitarem um aumento no crescimento de fungos e bactérias, que favorecem o aparecimento de doenças.

Durante o verão ou estação quente, o tempo de alimentação e a quantidade de alimento disponível em cada alimentação devem ser ajustados com o nível de oxigênio na água. O ar atmosférico contém cerca de 20% de oxigênio. A quantidade deste oxigênio que pode dissolver-se na água depende principalmente da pressão do oxigênio na superfície e da temperatura. A pressão parcial do oxigênio na atmosfera é muito constante e alcança 0,21 atm. Em condições naturais o nível de saturação será determinado principalmente pela temperatura. A concentração de oxigênio pode variar a 1,0 atm de 14,16 mg/l até 7,04 mg/l nas temperaturas de 15°C a 35°C respectivamente (HEPHER; PRUGININ, 1985).

Diminuir a quantidade de alimentos pode reduzir os problemas de baixo teor de oxigênio dissolvido (OD), mesmo com aeração, para prevenir a depleção de OD, a alta taxa alimentar, favorece o aumento da concentração de amônia, limitando a produção de peixes (COLE; BOYD, 1986). Além disso, a alimentação, quando manual, ocupa considerável porção do tempo da rotina diária dos piscicultores, particularmente para peixes jovens. Para que ocorra um desenvolvimento mais pronunciado na atividade de piscicultura, é primordial o estudo para desenvolvimento de novas linhagens que sejam mais produtivas e melhor adaptadas. Conhecer a capacidade de carga das unidades de criação

permite explorá-la com melhor eficiência resultando em melhor relação de custo e benefício do empreendimento (HEPHER; PRUGININ, 1985, PIAIA et al., 2000, BARCELLOS et al., 2004).

Os fatores que afetam o consumo de alimentos são: o conteúdo de energia da dieta e a temperatura da água. Os peixes alimentam para satisfazer suas necessidades energéticas e a sua quantidade na dieta determina quanto do alimento será consumido. A temperatura da água influencia a taxa metabólica e gasto de energia. A taxa de crescimento também é controlada pela temperatura. O total requerimento pelo alimento é proporcional à taxa de ganho de peso (CHO et al., 1985).

A alimentação quando manual ocupa considerável porção do tempo da rotina diária dos piscicultores, particularmente para larvas e alevinos. Os peixes nas primeiras fases de vida necessitam de pequenas quantidades de alimentos distribuídas em períodos uniformes (CHO et al., 1985). A alimentação dos peixes é facilitada automatizando o processo. No entanto, alimentadores automáticos e semi-automáticos são caros e nem sempre estão disponíveis.

Em viveiros de peixes, durante o verão ou estação quente, o tempo de alimentação e a quantidade de alimento disponível em cada alimentação devem ser ajustados conforme o nível de OD. Reduzir a quantidade de alimentos em cada distribuição pode reduzir os problemas de baixo teor de OD. A combinação de baixas concentrações de OD e altas concentrações de dióxido de carbono (CO_2) são particularmente prejudiciais. O CO_2 pode ser controlado pela aeração da água. Concentrações de CO_2 acima de 2,0 ppm podem causar queda no pH. Pequena porcentagem de CO_2 pode ser hidratada na forma de ácido carbônico. Alguns destes ácidos são dissociados em carbonato e íons bicarbonato (HCO_3^-) (BOYD, 1982).

Os sistemas para recirculação de água são desenhados para minimizar ou reduzir a dependência do abastecimento externo para trocas e eliminação de resíduos produzidos durante a criação dos peixes. Estes sistemas são práticos e podem ser utilizados comercialmente para produção de alevinos ou em aquicultura de pequena escala (McGEE; CICHRA, 1988).

Em sistema de recirculação, Helfrich e Libey (2002), ratificam que o reator aeróbio é o coração do sistema. O meio ideal deve ser resistente e de fácil limpeza, apresentar grande superfície de área, ser bem poroso, com boa passagem da água, baixa fixação de limo e permitir um denso crescimento de bactérias.

Para manter a qualidade da água o sistema deve satisfazer quatro condições essenciais de estabilidade. A primeira consiste na remoção de partículas sólidas como restos de ração e fezes; a segunda relaciona-se com a filtração biológica para remoção dos resíduos de amônia e nitrito; a terceira refere-se ao suprimento adequado do oxigênio necessário para a realização das reações metabólicas e por último o tamponamento do pH (HELFRICH; LIBEY, 2002, EBELING et al., 1995, McGEE; CICHRA, 1988).

Rijn (1996) afirma que a produção de resíduos sólidos nos sistemas de recirculação depende principalmente do modelo do sistema de cultivo e manejo, a qualidade, processamento e granulometria do alimento usado além da espécie aquática cultivada. Neste sentido, Ebeling et al. (1995), afirmaram que dois poluentes devem ser necessariamente retirados do sistema: os restos de alimentos não ingeridos juntamente com os sólidos fecais e os resíduos compostos de amônia excretados na água. Os alimentos não digeridos e fezes são as principais fontes de resíduos sólidos produzidos na aquicultura. Esta produção é estimada com base na matéria seca, entre 26% e 46% do total do alimento. As partículas de alimento não ingeridas devem ser eliminadas por provocarem danos nas brânquias e promoverem um aumento no crescimento de fungos e bactérias que favorecem o aparecimento de doenças.

Na água a amônia ocorre de duas formas: amônia ionizada (NH_4^+) com carga elétrica positiva e amônia (livre), não ionizada (NH_3), não carregada. A soma das duas é conhecida como amônia total (TAN). Os peixes e outros organismos aquáticos excretam os seus resíduos nitrogenados na forma de amônia (NH_3) que é o maior produto residual do metabolismo. Excretada através das membranas das brânquias e da urina, não apresenta odor ou cor. A amônia ionizada (NH_4^+) não é tóxica, porém a amônia não ionizada (NH_3) é altamente

tóxica, mesmo em pequenas concentrações, e deve ser mantida em níveis abaixo de 0,05 mg/l. A quantidade de TAN é dependente da temperatura e pH (FRANCIS-FLOYD; WATSON, 2002, GROMMEN, 2002, HARGREAVES; KUCUK, 2001).

O aspecto prático mais importante da influência da temperatura e do pH em produções intensivas é o efeito na ionização da amônia. Para uma dada temperatura e pH, os níveis de amônia não ionizada e amônia ionizada permanecem distribuídos proporcionalmente. A diminuição ou aumento na concentração de uma delas provoca a conversão da outra, mantendo o equilíbrio. O pH nas criações de peixes deve ficar entre 6,5 e 9,0. Altos valores de pH e temperatura podem causar aumento da quantidade de amônia não ionizada que é tóxica (HELFRICH; LIBEY, 2002, HARGREAVES; KUCUK, 2001, BOYD, 1982).

Wicks et al. (2002), afirmam que o mecanismo fisiológico dos peixes nem sempre é eficiente o bastante para protegê-los de um ambiente com alta concentração de amônia. Esta se acumula rapidamente no seu organismo e pode provocar alterações nas funções do sistema nervoso central, metabolismo de energia e balanço iônico. A exposição do peixe à concentração subletal de amônia induz respostas fisiológicas, bioquímicas, histológicas e comportamentais. A atividade alimentar pode ser reduzida para minimizar a produção de amônia metabólica. O aumento na concentração da TAN faz com que o pH das células se eleve, prejudicando as reações enzimáticas e a estabilidade das membranas.

Burrows (1964) apud (WICKS et al., 2002), afirma que também podem ocorrer mudanças morfológicas como a fusão das lamelas das guelras diminuindo a capacidade de transporte de oxigênio, que induzem modificações letais e subletais no fígado, baço, tecidos tireoidianos e no sangue. Em sequência pode haver bloqueio dos processos de fosforilação oxidativa e desequilíbrio na produção de hormônios de crescimento (corticosteróides), tornando os peixes mais susceptíveis para contrair doenças. Coletivamente, estas respostas suprimem o crescimento e podem causar mortalidade (HARGREAVES; KUCUK, 2001, COLT; TCHOBANOGLOUS, 1976, 1978, CARTER; NIEVES, sd).

Peixes teleósteos de água doce mantêm seus fluídos corporais hiperosmóticos em relação ao meio externo. Devido a esta diferença de concentração osmótica, ocorre uma entrada de água por osmose e perda passiva de íons. Este problema é resolvido através da produção de uma urina diluída e da absorção de íons monovalentes através das brânquias (EVANS, 1993 apud MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999).

Em sistemas de recirculação, o nitrito se acumula através da oxidação da amônia e redução a nitrato. Este composto representa perigo, porém sua toxidez é 10 vezes menor do que a amônia não ionizada. Concentrações maiores que 0,5mg/l provocam a doença do sangue marrom ou metahemoglobinemia. Neste caso o sangue fica impedido de transportar oxigênio e a hemoglobina é oxidada pelo nitrito (COLT; TCHOBANOGLOUS, 1976). Entretanto, Ebeling et al. (1995), recomendam a renovação diária de 3 a 10% da água do sistema para controlar possíveis excessos nos níveis de nitrito e que os peixes são muito resistentes ao nitrato.

A neutralização da amônia no reator aeróbio, ocorre pela ação das bactérias nitrosomonas e nitrobacter e ocorre conforme as seguintes reações (U. S. EPA, 1975 apud PRAHL; SANCHES, 1989),

Nitrosomona:

$$\text{NH}_4^+ + 1,5 \text{O}_2 + 2\text{HCO}_3^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} \text{ com perda de } 58,84 \text{ kcal/ mol de amônio (perda de energia livre).}$$

Nitrobacter:

$$\text{NO}_2^- + 0,5 \text{O}_2 \longrightarrow \text{NO}_3^- \text{ com perda de } 15,4 - 20,9 \text{ kcal/mol de nitritos. A reação completa pode ser assim representada:}$$

$$\text{NH}_4^+ + 2 \text{O}_2 + 2\text{HCO}_3^- \longrightarrow \text{NO}_3^- + 2\text{H}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} \text{ sendo necessário } 4,6 \text{ mg de } \text{O}_2 / \text{ mg } \text{NH}_4^+ + \text{-N para oxidar completamente o amônio.}$$

A acidificação é observada no sistema de recirculação nitrificante, onde a alcalinidade decresce para 6,0-8,6mg de HCO_3^- para cada mg de amônia oxidado para nitrato (SHARMA; AHLERT, 1977). Contudo, a liberação dos íons hidroxilas

pela denitrificação de 1,0 mg de nitrato reduzido para N₂ promove um aumento na alcalinidade de 3,57 mg (JERIS; OWENS, 1975).

Os carbonatos e bicarbonatos apresentam um efeito tamponador, evitando assim alterações bruscas no pH da água. A dureza de carbonatos (KH) funciona como indicador da estabilidade do pH, ou seja, quanto maior o KH mais estável será o pH (BRANCO, 1970b). O teste de KH associado ao pH serve também como indicador da concentração de CO₂ conforme constam das recomendações dos kits comerciais para análise da água. As bactérias removem carbonatos da água para produzirem a massa bacteriana ao retirarem amônia. A quantidade de amônia retirada no biofiltro reduz a alcalinidade do sistema. Esta alcalinidade deverá ser repostada diariamente (EBELING et al., 1995).

Os sistemas de recirculação são geralmente caros e de difícil manutenção, exigindo para o seu funcionamento a utilização de mão de obra especializada. Aplicar o conhecimento relativo ao processo de tratamento da água, para aproveitamento na criação de peixes em áreas urbanas com sistemas eficientes, de fácil construção e baixo custo, poderá popularizar a criação em áreas carentes, gerando renda extra e melhoria na alimentação. Desta forma, este trabalho teve como objetivo adaptar uma caixa de 320 litros com recirculação e filtração biológica da água, para reduzir a quantidade de resíduos metabólicos sólidos e solúveis e medir o seu desempenho na produção de pescado.

O jundiá é um peixe resistente e sobrevive no rio Uberabinha no percurso que atravessa o centro da cidade de Uberlândia em Minas Gerais, acompanhando o desenvolvimento desta e todas as conseqüências de alteração do ambiente que constitui o seu habitat. É um peixe com relativa facilidade quanto à indução artificial da reprodução e incubação dos ovos (NETO, 1981).

Estes peixes servem de alimento à população ribeirinha de baixa renda a longa data, apesar das advertências feitas pelas autoridades sanitárias, quanto a possíveis conseqüências devido à poluição. O período de maior atividade do *R. quelen* se dá principalmente, nas primeiras horas da noite, neste período, ficam mais ativos e vorazes na tentativa de obterem suas presas. Alguns pescadores relatam que, neste período, *R. quelen* tem muita fome e suas presas, que durante

o dia são ativas, neste período encontram-se mais inertes, facilitando sua captura (GOMES et al., 2000, MARDINI et al., 1981).

A variabilidade genética e a plasticidade fenotípica atuaram de modo a permitir a sobrevivência desta espécie, ocorrendo assim um crescente interesse técnico para o desenvolvimento de métodos que permitam sua criação artificial. A criação destes animais artificialmente tem dois objetivos distintos, quer seja para obtenção de carne em criações intensivas ou para repovoamento de rios e barragens. A espécie *R. quelen* é utilizada em piscicultura intensiva, notadamente nos estados da região Sul brasileira, como Paraná e Santa Catarina, por apresentar carne de boa qualidade, ter bom crescimento e resposta eficiente à indução artificial, mas seu uso em repovoamento ainda não foi efetuado (GOMES et al., 2000, PIAIA et al., 2000, BEHR et al., 1999).

A Citogenética constitui excelente ferramenta de análise para comparações de alterações ocorridas no número e na estrutura cromossômica (FENOCCHIO, 1993, SUMNER, 1972). Através do estudo citogenético, pode-se comparar as alterações ocorridas nos cromossomos da população do *R. quelen* do rio Uberabinha com as de outras populações já descritas, tais como aquelas estudadas por Stivari e Martins-Santos (2004), Fenocchio et al. (2003), Abucarma; Martins-Santos (2001), Fenocchio et al. (2000), Maistro (1996), Valcarcel et al. (1993), Foresti (1993), Fenocchio e Bertollo (1990), nos quais apresentaram cariótipo com $2n=58$ cromossomos, mas com variação interindividual de um a dois cromossomos B de tamanho médio.

Os cromossomos B são definidos como cromossomos supranumerários que não apresentam homólogos e não pareiam com os cromossomos do complemento A (BEUKEBOOM, 1994). O genótipo só pode ser identificado e, portanto, estudado por seu efeito fenotípico. A distribuição fenotípica de uma característica é uma função das diferenças médias entre os genótipos e das respostas destes em relação ao meio ambiente (GRIFFITHS et al., 2000). As aplicações destes conhecimentos em programas de produção de alevinos, com finalidade de criação intensiva ou repovoamento, são fundamentais para obtenção de resultados positivos quanto ao destino final destes peixes.

Através do estudo citogenético da população do *R. quelen* do rio Uberabinha pode-se comparar características cromossômicas próprias desta população com as de outras populações já descritas, tais como aquelas estudadas por Stivari e Martins-Santos (2004), Fenocchio et al. (2003), Fenocchio et al. (2000), Valcarcel et al. (1993), Fenocchio e Bertollo (1990).

Beukeboom (1994), Camacho et al. (2000) citam que os cromossomos B são encontrados em diversos grupos do reino vegetal e animal. Sua origem é desconhecida e parecem seguir sua própria trajetória evolucionária. Estima-se que apareçam em 15% dos seres vivos e constantemente ocorrem novos relatos de sua presença. Sua distribuição e frequência em uma dada população dependem do modo como eles são transmitidos aos descendentes e a pressão seletiva imposta pelo meio ambiente.

A herança dos cromossomos B não segue o padrão mendeliano, exibindo às vezes, não-disjunção na anáfase mitótica, resultando em números cromossômicos variáveis entre organismos e às vezes no mesmo indivíduo. No entanto, generalizações são evitadas uma vez que as adaptações existentes entre os complementos A e B tornam-se confusas e difíceis de medir os efeitos do ambiente. Néo et al. (2000), estudando populações de *Astyanax scabripinnis* em locais de diferentes altitudes, verificaram alta incidência de cromossomos B representando 51% dos indivíduos da população localizada a 1920m e 21% dos indivíduos da população localizada a 1800m e nenhum animal oriundo da população localizada a 700m de altitude apresentou cromossomo B. Os autores constataram uma variação de cromossomos B quanto ao número, tamanho, forma e frequência entre os sexos.

Maistro (1996) considera que os cromossomos B podem ter se originado a partir de amplificações, permuta desigual ou outros rearranjos de certos segmentos cromossômicos do complemento A, ou a partir de uma não disjunção relacionada com cromossomos do complemento A, seguida de inativação por heterocromatização do cromossomo extra. No entanto, apesar do autor não distinguir qual das duas hipóteses seja a mais frequente sugere que, após sua

origem, os cromossomos B sofrem modificações que atualmente permitem diferenciá-los dos cromossomos A.

Rejón et al. (1987), destacam o provável papel evolutivo do cromossomo B que, em seu processo de diferenciação, acumularia mutações que atuariam como possíveis reservatórios de variabilidade genética. Os cromossomos B teriam adquirido mecanismos que lhes permitem escapar do controle mendeliano de transmissão hereditária, sendo capazes de evoluírem, pelo menos até certo ponto, de maneira autônoma, com independência de seus efeitos fenotípicos. Deste modo seriam depósitos de variabilidade genética, que poderia ser reciclado, voltando a integrar-se ao grupo dos cromossomos A, com participação ativa na evolução global do genoma. O perfeito entendimento do mecanismo que controla estes efeitos ainda permanece desconhecido.

Camacho et al. (2000) sugere que alguns genes dos cromossomos B são ativos, podendo, em algumas circunstâncias, proporcionar alguma vantagem ao genoma e, se os cromossomos B podem eventualmente capturar genes a partir do genoma dos cromossomos A, podem tornar-se indispensáveis.

Beukeboom (1994) observou que a variação relativa ao tamanho dos cromossomos B, tanto intra-individualmente quanto inter-individualmente deve ser atribuída ao seu comportamento na mitose, onde pode ocorrer disjunção irregular das cromátides, e na meiose, onde a não existência de pareamento poderá resultar em alterações no número desses cromossomos nos diferentes gametas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUCARMA, M.; MARTINS-SANTOS, C. Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* species (Pisces, Pimelodidae) endemic in the River Iguaçu basin. **Cytologia**, v. 66, p. 299 - 306, 2001.

BARCELLOS L. J. G.; KREUTZ, L. C.; QUEVEDO, R. M.; FIOREZE, I. CERICATO, L.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R. K.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursey rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD) in cages: Cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v. 232, p. 383 - 394, 2004.

BARKER, J. M. B. Tanques para piscicultura. In: SANTOS, R. R.; ANJOS, R. V. V. (Eds.) **Poluição e Piscicultura**, p. 181 - 194, 1970.

BEHR, E.R.; RADANUZ NETO, J.; TRONCO, A.P. ; FONTANA, A.P. Influência de diferentes níveis de luminosidade sobre o desempenho de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy e Gaimard, 1824) (Pisces: Pimelodidae). **Acta Scientiarum**. Maringá v. 21, n. 2, p. 325 - 330, 1999.

BEUKEBOOM, L. W. Bewildering B: an impression of the 1st B-Chromosome conference. **Heredity**, v. 73, p. 328 - 336, 1994.

BOYD, C.E. Managing water quality in chanel catfish ponds. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 37, n. 4, p. 207 - 209. 1982.

BRANCO, S. M. Poluição e intoxicação de peixes. In: SANTOS, R. R.; ANJOS, R. V. V. (Eds.) **Poluição e Piscicultura**, p. 45 - 53, 1970a.

BRANCO, S. M. Poluição. Alterações na composição física, química e biológica do meio aquático. In: SANTOS, R. R.; ANJOS, R. V. V. (Eds.) **Poluição e Piscicultura**, p. 37 - 44, 1970b.

BRITES, V. L. C.; RANTIN, F. T. Hematologia, bioquímica do sangue, parasitologia, microbiologia, algas epizoários e histopatologia de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudinata, Chelidae), expostos a diferentes influências antrópicas no rio Uberabinha, Minas Gerais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, UNIPAR, Umuarama, v. 7, n. 1, p. 91 - 94, 2004a.

BRITES, V. L. C.; RANTIN, F. T. The influence of agricultural and urban contamination on leishmaniasis of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha River. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 96, p. 273 - 281, 2004b.

BRITISKI, H.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de Identificação de Peixes da Região de Três Marias**. Brasília. Câmara dos Deputados. Coordenação de Publicações. 1984. 143p.

CAMACHO, J. P.; SHARBEL, T. F.; BEUKEBOOM, L.W. B-chromosome evolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Série B**, v. 355, p. 163 - 178, 2000.

CARTER, J. C.; NIEVES, M. A. Aquarium fish medicine. **Iowa State University Veterinarian**, v.55, n. 1, p. 10 - 16. Sem data.

CHO, C. Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T. **Finfish Nutrition in Asia Methodological Approaches to Researches and development**. Ottawa: IDRC, 1985. 154p.

COLE, B.A.; BOYD, C. E.; Feeding rate, water quality, and channel catfish production in ponds. **Progressive Fish-Culturist**, v. 8, n. 2, p. 209 - 224, 1986.

COLT, J.; TCHOBANOGLOUS, G. Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus* to ammonia effects on growth and survival. **Aquaculture**, v. 15, p. 353 - 372, 1978.

COLT, J.; TCHOBANOGLOUS, G. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 8, p. 209 - 224, 1976.

EBELING, J.; JENSEN, G.; LOSORDO, T.; MASSER, M.; MCMULLEN, J.; PFEIFFER, L.; RAKOCY, J.; SETTE, M. **Model Aquaculture Recirculation System (MARS) Engineering and Operations Manual**. Iowa: Iowa State University. 1995. 50p. Disponível em: <<http://aquanics.org/publicat/govagen/ncae/part1.pdf>> e <<http://aquanics.org/publicat/govagen/ncae/part2.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2002.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; DIAS, A. L.; SWARÇA, A. C. Cytogenetic studies and correlate considerations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v. 68, n. 4, p. 363 - 368, 2003.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; CAMACHO, J. P. M. B chromosomes in two fish species, genus *Rhamdia* (Siluriformes, Pimelodidae). **Folia Biologica**, Krakow, v. 48, n. 3 - 4, p. 105 - 109. 2000.

FENOCCHIO, A.S. **Cromossomos supranumerários no gênero Rhamdia (PISCES): Caracterização cromossômica e considerações sobre evolução cariotípica em Siluroidei**. 1993. 122f. Tese (Doutorado em Genética e Matemática Aplicada à Biologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

FENOCCHIO, A.S.; BERTOLLO, L.A.C. Supernumerary chromosomes in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae). **Genetica**, v.81, p.193 - 198, 1990.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. **Experientia**, v. 49, p. 810 - 813, 1993.

FRANCIS-FLOYD, R.F.; WATSON, C. Ammonia. **UF/IFAS**, Florida: University of Florida, Department of Fisheries and Aquatic Sciences. 1990. 6p. Sciences. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FA031>. Acesso em: 20 fev. 2002.

GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). **Ciência Rural**, v. 30, p.179 - 185, 2000.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M. **Introdução à genética**: Genética quantitativa. Tradução de Motta, A. P. 7. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2000. 794p.

GROMMEN, R.; VAN HAUTEGHEM, I.; VAN WAMBEKE, M.; VERSTRAETE, W. An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from freshwater aquaria systems. **Aquaculture**, v. 211, p. 115 - 124, 2002.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia sp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae).** 1980. 99f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

HARGREAVES, J.A.; KUCUK, S. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. California: **Aquaculture**, v. 195. p.163 - 181, 2001.

HELFRICH, L. A.; LIBEY, G. **Fish farming in recirculating aquaculture systems (RAS).** Virginia Tech. Department of Fisheries and Wildlife Sciences. 15 p. Disponível em: <http://www.auburn.edu/aunorth/student_resources/module_3/recirculate_aqua_sys.htm>. Acesso em: 07 nov. 2002.

HEPHER, B.; PRUGININ, Y. **Cultivo de peces comerciales:** Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel. Tradução de Canudas, L. F.; Acuña, E. E. Mexico: Granjas San Antonio, 1985. 316 p.

JERIS, J.; OWENS, R.W. Pilot-scale, high rate biological denitrification. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 47, p. 2043 - 2057, 1975.

MAISTRO, E. L. **Caracterização morfológica e estrutural de cromossomos supranumerários em peixes.** 1996. 152f. Tese (Doutorado em Genética). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MARCHIORO, M.I.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 315 - 318, 1999.

MARDINI, C.V.; SILVEIRA, M.A.; BARDENHO, D.H.L. **Técnica de indução da desova em jundiá (*Rhamdia quelen*) empregada na estação experimental de piscicultura da Lagoa dos Quadros.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1981. 14 p. (Documento ocasional, 4).

McGEE, M.; CICHRA, C. Principles of water recirculation and filtration in aquaculture. **UF/IFAS**, Florida: University of Florida, Department of Fisheries and Aquatic Sciences. 1988. 5p. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FA050>. Acesso em: 29 jan. 2002.

CAPÍTULO 1 - Estudo da variabilidade genética de uma população de *Rhamdia quelen* (PISCES, Rhamdiidae): I. Indução artificial da ovulação e produção de alevinos.

1.1 Resumo

O objetivo deste trabalho foi induzir, pela hipofisação, a reprodução artificial e produção de alevinos a partir de uma fêmea e dois machos de jundiá (*R. quelen*) capturados diretamente no leito poluído do rio Uberabinha, Uberlândia - MG. A reprodução artificial do jundiá foi realizada no Laboratório de reprodução artificial da Estação de Piscicultura do Parque do Sabiá. As larvas oriundas da indução artificial foram criadas na Estação de Piscicultura da Fazenda do Glória, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia – MG. Elas foram criadas por 25 dias, em 2 tanques de concreto de 2,0 x 4,0 x 0,8m de profundidade cada um. Nas condições estudadas, a resposta à indução artificial da ovulação do jundiá foi positiva com obtenção de grande número de alevinos viáveis com variabilidade fenotípica significativa, resultando 507 e 733 alevinos filhos dos pais 1 e 2 respectivamente.

Palavras-chave: Bagre, *Rhamdia quelen*, hormônio, reprodução, genética.

1.2 Abstract

The purpose of this paper was to induce, using hypophization, the artificial reproduction and fries production from one jundiá catfish (*R. Quelen*) female and two males, captured directly from the polluted area of Uberabinha river, Uberlândia – Minas Gerais. The artificial reproduction of jundiá was done at the Artificial Reproduction Laboratory of the Aquaculture Station of the Parque do Sabiá. The grubs originated from the artificial induction were raised at the Aquaculture Station of Fazenda do Glória, belonging to the Uberlandia Federal University – MG. They were raised for 25 days, in two concrete pools of 2.0 x 4.0 x 0.8m of depth each. In the studied conditions, the answer to the artificial ovulation induction of jundiá was

positive, obtaining a great number of viable fries with a significant phenotypic variability, resulting 507 and 733 fries fathered from fathers 1 and 2 respectively.

Key words: Catfish, *Rhamdia quelen*, hormone, reproduction, genetic.

1.3 Introdução

A conservação da biodiversidade aquática tem motivado inúmeras discussões e pesquisas. Neste sentido, muitas ações do Poder Público visam coibir práticas que degradam o ambiente, obrigando os infratores a realizarem peixamentos em diversos rios. No entanto, Toledo-Filho (1992), afirma que a escassez de informação e material genético adequado conduz a práticas incorretas de peixamentos resultando em redução da variabilidade genética das populações dos peixes.

Britiski et al. (1984) descrevem os bagres como pertencentes à família Pimelodidae que agrupa formas muito diversificadas, alguns diminutos, com poucos cm de comprimento e outros gigantes, apresentando mais de 2m de comprimento. Entretanto, Pinna (1993) (apud SWARÇA et al., 2000) descreve um novo agrupamento para os peixes pertencentes ao gênero *Rhamdia* em uma nova família denominada Rhamdiidae.

Estes peixes apresentam hábito alimentar onívoro, possuem corpo nu, aberturas branquiais amplas, nadadeiras dorsal e peitoral precedidas por um acúleo (SILFVERGRIP, 1996 apud GOMES et al., 2000, MOTTA et al., 1985, GUEDES, 1980).

O comportamento reprodutivo dos peixes do gênero *Rhamdia* se assemelha ao de muitas espécies de água doce. Quando os cardumes atingem a maturidade sexual, não apresentam cuidados parentais e procuram lugares de água rasa, limpa, pouco corrente e com fundo pedregoso onde realizam a desova (GOMES et al., 2000).

O jundiá responde à indução artificial da reprodução, resiste bem a variações de pH, temperatura, dureza da água, oxigênio dissolvido e salinidade. Estas características tornam-no adequado para utilização em programas de

repovoamento e piscicultura intensiva (MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999, CHIPPARI-GOMES, 1998, TOWNSEND et al., 2003, 1997, MARDINI et al., 1981).

O objetivo deste trabalho foi induzir a ovulação artificial e produzir alevinos de *R. quelen*, filhos de pais capturados diretamente na natureza.

1.4 Material e Métodos

Imediatamente após a captura de uma fêmea de *Rhamdia quelen* pesando 380g e dois machos de 160g e 200g, no leito poluído do rio Uberabinha, na região central da cidade de Uberlândia - MG, no local conhecido como curva da Av. Vasconcelos Costa (Figura 1.1), os animais foram avaliados quanto aos caracteres secundários externos de maturidade sexual (MARDINI et al., 1981). Na fêmea, a avaliação consistiu de observação da papila genital quanto à intumescência, cor avermelhada e toque para constatação da maciez do abdômen. Nos machos, observou-se a fluidez do esperma após leve compressão abdominal.



Figura 1.1 – Vista do rio Uberabinha no local denominado curva da Av. Vasconcelos Costa

A seguir, os animais foram transportados para o laboratório de reprodução artificial do Parque do Sabiá, em tambor plástico com 20 litros de água e fluxo constante de oxigênio controlado por manômetro 1litro/minuto (White Martins) onde permaneceram em tanque de alvenaria de 1m³ com fluxo de água constante

e temperatura média de 27°C. A fêmea recebeu duas doses de extrato de hipófise de carpa (Argent Chemical Laboratories; USA) na proporção de 3mg/kg com intervalo de 5 horas, sendo a primeira dose igual a 10% da segunda. Nos machos, aplicou-se dose única de 1,5mg/kg ao tempo da segunda dose na fêmea conforme técnica descrita por Woynarovich e Horvath (1983).

A extrusão dos gametas femininos e masculinos ocorreu 220 horas grau após a aplicação da segunda dose do hormônio na fêmea. Esta produziu 40g de ovócitos que foram divididos em duas porções. A fecundação foi feita a seco e separadamente nas duas porções, utilizando-se o sêmen retirado dos dois machos. Após a hidratação, os ovos foram transferidos para incubadoras com capacidade para 60 litros de água. As larvas eclodiram após 985 horas grau e permaneceram por mais 4 dias nas incubadoras até a total absorção do saco vitelino e aparecimento da cor marrom avermelhado claro características da espécie (NAKATANI et al., 2001, SILFVERGRIP, 1996 apud GOMES et al., 2000).

Dois viveiros de alvenaria de 2 x 4 x 0,8m de profundidade, localizados na Estação de Piscicultura da Fazenda do Glória pertencente à Universidade Federal de Uberlândia, foram previamente adubados com 2kg de esterco de aves e 200g de calcário calcítico, para formação de plâncton, conforme considerações de Teixeira et al. (1989) para controle da eutrofização. Os alevinos estocados separadamente nestes tanques foram alimentados diariamente e à vontade, durante 25 dias, com ração inicial (Nutron Alimentos Ltda.) finamente moída e umedecida.

A temperatura da água foi registrada diariamente às 10:00h e às 15:00h. A cada 4 dias, às 10:00h, foram também analisados os seguintes fatores físico-químicos da água: oxigênio dissolvido (mg/l), pH e alcalinidade total (mg/l) com a metodologia descrita em A.P.H.A. (1971).

Utilizou-se para comparação das duas progênes, as ferramentas integradas para análise de dados do Microsoft® Excel 97, considerando-se as argumentações de Bernal-Searcy (1994), quanto à relevância da ANOVA para se avaliar o efeito mínimo detectado, quando se aceita que as diferenças encontradas no experimento não são significativas.

1.5 Resultados e Discussão

Foram produzidos 1240 alevinos, sendo 507 oriundos da progênie do macho 1 e 733 da do outro macho que, a partir daí, foram caracterizados como pais 1 e 2, respectivamente. A biometria dos peixes foi realizada aos 25 dias, com a utilização de régua milimetrada. O peso foi obtido utilizando-se balança analítica HR – 200 (A&D Company Ltd.).

Verificou-se a permanência dos alevinos agrupados em um local determinado no fundo da parte sombreada, onde também se alimentavam, inibindo disputa territorial nas demais áreas dos tanques, corroborando com observações de Piaia et al., 2000, Behr et al., 1999, Piaia e Neto, 1997.

A Tabela 1.1 mostra o comportamento das variáveis físico-químicas durante o desenvolvimento de larvas para alevinos.

Tabela 1.1. Amplitude das variáveis físico-químicas da água dos tanques 1 e 2 durante a transformação das larvas em alevinos

Variáveis	Tanque 1			Tanque 2		
	Máxima	Mínima	Amplitude	Máxima	Mínima	Amplitude
T °C – Manhã	27,0	22,0	5,0	27,0	22,0	5,0
T °C – Tarde	29,0	23,0	6,0	29,0	26,0	3,0
OD (mg/l)	5,2	0,4	4,8	5,0	0,2	4,8
pH	7,0	6,0	1,0	7,0	6,0	1,0
Alcalinidade (mg/l)	30,0	22,0	8,0	30,0	20,0	10,0

As variações nos valores da temperatura da água apresentaram amplitude de 5°C entre as médias encontradas nos dois períodos em que foram medidas apresentando valor mínimo de 22°C e máximo de 29°C, estes valores podem ser considerados normais para o desenvolvimento destes peixes (CHIPPARI-GOMES, 1998).

Os baixos teores de oxigênio dissolvido obtidos das análises feitas para os tanques um e dois, ocorreram logo após a adição do esterco de aves, para produção de plâncton no início do experimento. Durante este período não houve renovação da água. O seu efeito sobre as larvas não foi avaliado, porém a partir do terceiro dia até o final do experimento houve renovação constante da água dos tanques na proporção de 3% do volume/24h.

Gomes et al. (2000) encontraram que os alevinos de *R. quelen* suportam variação de pH na faixa de 4,0 – 8,5 com dureza de 30,0mg/l de CaCO_3 . No entanto, o melhor crescimento das larvas desta espécie foi observado por Lopes (1998) na faixa de pH de 8,0 a 8,5. Townsend et al. (2003, 1997) constataram que os alevinos também suportam níveis de dureza de até 600mg/l de CaCO_3 por 96h sem mortalidade. Estes experimentos foram conduzidos no Estado do Rio Grande do Sul. Apesar das características peculiares deste estado, os resultados obtidos no presente estudo mostraram variação do pH e alcalinidade na faixa considerada normal por estes autores.

A Figura 1.2 mostra a variação fenotípica dos alevinos, aos 25 dias, das classes peso (g) e comprimento total (mm). Observou-se que a distribuição das freqüências dentro de cada uma das classes apresentou grande variabilidade, com destaque para quatro espécimes filhos do pai 1 que mostraram peso e comprimento muito diferentes dos demais. Um exemplar apresentou ao final de 25 dias, 115mm de comprimento total e 13,4g de peso. A média geral de comprimento total para a população em questão foi de 49,56mm, e a média geral de peso 1,11g. Obtiveram-se maior variância para peso e comprimento total ($0,7192\text{g}^2$ e $92,5229\text{mm}^2$) para a progênie do pai 1 que para a progênie do pai 2 ($0,2036\text{g}^2$ e $72,6720\text{mm}^2$) respectivamente.

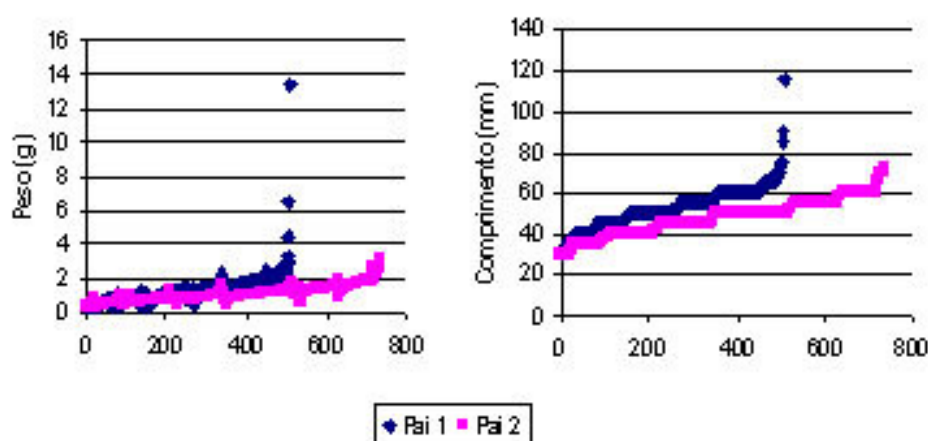


Figura 1.2 - Progênie dos Pais 1 e 2 - Curva da variação fenotípica do peso (g) e do comprimento total (mm) aos 25 dias.

Considerou-se a posição de Bernal-Searcy (1994) quanto aos efeitos mínimos detectados pela análise do experimento e constatou-se precisão superior a 99% e 83,2% respectivamente, para diferenças no peso (0,3g) e comprimento total (0,5mm). A variação na distribuição das frequências de peso e comprimento total entre filhos dos pais 1 e 2 não foram significativas ($p > 0,05$).

A progênie do pai 1 foi menor (507 alevinos) do que a obtida para o pai 2 (733 alevinos). As maiores variâncias ($0,7192\text{g}^2$ e $92,5229\text{mm}^2$) apresentadas pela progênie do pai 1 para peso e comprimento, comparadas com a progênie do pai 2 ($0,2036\text{g}^2$ e $72,6720\text{mm}^2$) indicam que houve maior variabilidade fenotípica para estas características na progênie do pai 1. Os alevinos filhos do pai 1 apresentaram médias superiores para comprimento total 52,48mm e peso 1,28g em relação à progênie do pai 2, que apresentou comprimento total médio de 47,54mm e 0,99g de peso. A progênie do pai 1, por apresentar menor número de alevinos, foi criada em menor densidade e apresentou melhor desenvolvimento, fato este já constatado por outros autores (GOLOMBIESK et al., 2003, BEHR et al., 2000, GOMES et al., 2000, PIAIA et al., 2000, MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999, CHIPPARI-GOMES, 1998, TOWNSEND et al., 1997, 2003, FONTES et al., 1990, HEPHER; PRUGININ, 1985).

As medidas de peso e comprimento total dos alevinos filhos dos pais 1 e 2 apresentaram correspondência linear, permitindo a utilização da análise de regressão para se estimar os valores de peso e/ou comprimento dos peixes. As equações que representam a correspondência entre as variáveis comprimento ($y = \text{mm}$) e o peso ($xi = \text{g}$) foram $y = 40,4303 + 9,4532 xi$ ($r = 0,912907$, $p < 0,01$) e $y = 30,7317 + 16,9216 xi$ ($r = 0,946467$, $p < 0,01$) para pai 1 e pai 2 respectivamente.

Toledo-Filho (1992) e Toledo-Filho et al. (1992) recomendam a proporção sexual de 50% de fêmeas para 50% de machos, e para manter a variabilidade genética da população em torno de 95% torna necessária a captura de pelo menos 25 casais de acordo com Franklin, 1980 (apud PRIMACK E RODRIGUES, 2002). A captura deste número de exemplares, no período de maturação sexual, no próprio leito do rio Uberabinha, ao invés de mantê-los estocados artificialmente

não foi possível, porém, a utilização dos 3 exemplares capturados, permitiu testar a viabilidade da prática da indução artificial da ovulação e produção de alevinos.

As Figuras 1.3 e 1.4 apresentam a variação fenotípica na distribuição de peso (g) e comprimento total (mm) dos peixes e a linearidade obtida com as respectivas equações para as progênes dos pais 1 e 2.

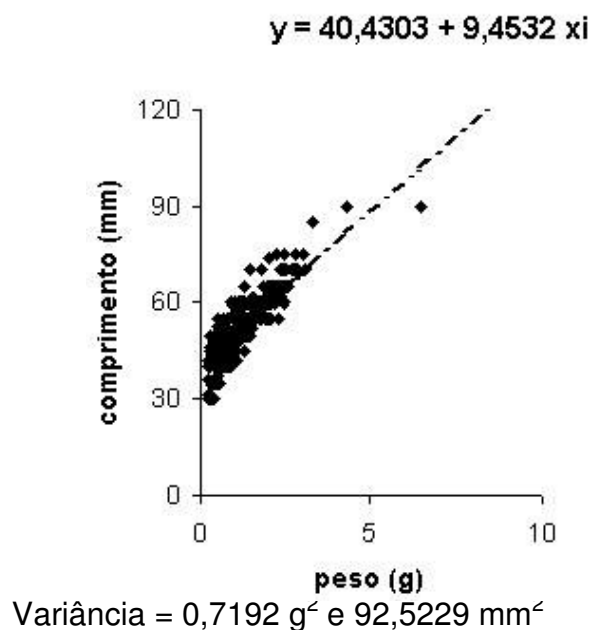


Figura 1.3 - Progênie do Pai 1 - Curva da variação fenotípica do comprimento total (mm) em função do peso unitário do peixe (g) aos 25 dias.

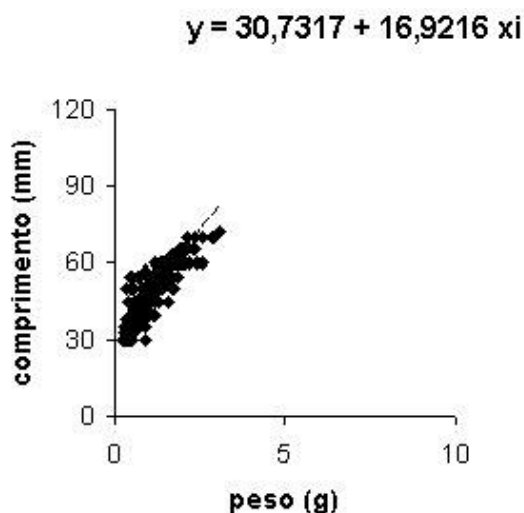


Figura 1.4 - Progênie do Pai 2 - Curva da variação fenotípica do comprimento total (mm) em função do peso unitário do peixe (g) aos 25 dias.

1.6 Conclusões

Nas condições estudadas, a resposta à indução artificial da ovulação do jundiá foi positiva, com obtenção de grande número de alevinos viáveis com variabilidade fenotípica significativa.

1. 7 Referências Bibliográficas

A.P.H.A - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standart methods for the examination of water and wasterwater**, 14. ed. Washington, 1971. 874p.

BEHR, E.R.; RADANUZ NETO, J.; TRONCO, A.P.; FONTANA, A.P. Influência de diferentes níveis de luminosidade sobre o desempenho de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy e Gaimard, 1824) (Pisces: Pimelodidae). **Acta Scientiarum**. Maringá v. 21, n. 2, p. 325 - 330, 1999.

BEHR, E.R.; TRONCO, A.P.; RADANUZ NETO, J. Ação do tempo e da forma de suplementação alimentar com *Artemia franciscana* sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas de jundiá. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 503 - 507, 2000.

BERNEL-SEARCY, R. Statistical power and aqüicultural research. **Aquaculture**, California, v. 127, p. 371 - 378, 1994.

BRITISKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias**. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, 1984. 143p.

CHIPPARI-GOMES, A. R. **Temperaturas letais de larvas e alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824 – Pisces, *Pimelodidae*)**. 1998. 70f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FONTES, N. A.; SENHORINI, J.A.; LUCAS, A. F. B. Efeito de duas densidades de estocagem no desempenho larval do paqui, *Piaractus mesopotamicus* (fêmea) (HOLMBERG, 1887) x *Colossoma macropomum* (macho) (CUVIER, 1818), em viveiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, v. 3, n. único, p. 23 - 32, 1990.

GOLOMBIESK, J. I.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B.; SILVA, J. H. S. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. **Aquaculture**, v. 216, p. 95 - 102, 2003.

GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, *Pimelodidae*) **Ciência Rural**, Santa Maria v. 30, n. 1, p. 179 - 185, 2000.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia quelen*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, *Pimelodidae*)**. 1980. 99f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

HEPHER, B.; PRUGININ, Y. **Cultivo de peces comerciales**: Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel. Tradução de Canudas, L. F.; Acuña, E. E. Mexico: Granjas San Antonio, 1985. 316 p.

KALIL, E. B. **Princípios de técnica experimental com animais**. 2a reimpressão. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo: Piracicaba, 1977. 210p.

LOPES, J.M. **Influência do pH da água na sobrevivência e crescimento de larvas de jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy E Gaimard, 1824 – Pisces, *Pimelodidae*) em duas épocas de desovas**. 1998. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MARCHIORO, M.I.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 315 - 318, 1999.

MARDINI, C.V.; SILVEIRA, M.A.; BARDENHO, D.H.L. **Técnica de indução da desova em jundiá (*Rhamdia quelen*) empregada na estação experimental de piscicultura da Lagoa dos Quadros**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1981. 14 p. (Documento ocasional, 4).

MOTTA, H.C.G.; FIALHO, F.B.; TEJERINA, F.L.G. Estudo do hábito alimentar de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces, Siluriformes, *Pimelodidae*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 12.; 1985.Campinas. **Anais...** Campinas: CBZ, 1985. p. 178.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; MAKRAKIS, M. C.; PAVANELLI, C. S. **Ovos e larvas de peixes de água doce – Desenvolvimento e manual de identificação**. Ed. Universidade Estadual de Maringá, Paraná: Maringá, 2001. 378 p.

PIAIA, R.; NETO, J.R. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 319 - 323, 1997.

PIAIA, R.; NETO, J.R.; BALDISSEROTTO, B. Densidade de estocagem e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 509 - 513, 2000.

PRIMACK, R.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina: Vida, 2002. 327p.

SAS – Statistical Analysis System. User's Guide. Version 6, SAS INSTITUTE INC. 4. ed. North Caroline: SAS INSTITUTE, 1989. 846 p.

SWARÇA, A.C.; CAETANO, L.G.; DIAS, A.L. Cytogenetics of species of the families Pimelodidae and Rhamdiidae (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto. v. 23, n. 3, p. 589 - 593, 2000.

TEIXEIRA, L.M.; GUILHERME, L.C.; SILVA, A.T. Qualidade de água para piscicultura em função de diferentes tipos de resíduos. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 13, n1, p. 86 - 96, 1989.

TOLEDO-FILHO, S. A. Hibridação e conservação genética de peixes. **Revista Brasileira de Genética**, v.15, n.1, p. 222 - 226, 1992.

TOLEDO-FILHO, S. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F.; GALHARDO, E.; DONOLA, E. Conservação genética de peixes em projetos de repovoamento de reservatórios. **Cadernos de ictiogenética**, v. 1, p. 5 - 36, 1992.

TOWNSEND, C.R.; PIAIA, R.; BALDISSEROTTO, B. Tolerância de alevinos de *Rhamdia quelen* (jundiá) a variações de pH e de dureza da água utilizada no cultivo. In: ENCONTRO ANUAL DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 26. 1997. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SFRES, 1997. p. 65.

TOWNSEND, C.R.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness, **Aquaculture**, v.215, p. 103 - 108, 2003.

WOYNAROVICH, C.H.; HORVATH, L.A. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais**: manual de extensão. Brasília: FAO/Codevasf/CNPq, 1983. 220p.

CAPÍTULO 2 - Estudo da variabilidade genética de uma população de *Rhamdia quelen* (PISCES, Rhamdiidae): II. Efeito de três densidades de estocagem no desempenho de juvenis de *Rhamdia quelen* (PISCES, Rhamdiidae) em tanques de concreto.

2.1 Resumo

O experimento para avaliar o desempenho dos juvenis, foi conduzido em 12 tanques de concreto de 2,0 x 4,0 x 0,8m de profundidade cada um e teve duração de 127 dias. O modelo fatorial foi usado como delineamento experimental para avaliar o efeito dos tratamentos (densidades de estocagem: T1=3 peixes/m²; T2=5 peixes/m²; e T3=10 peixes/m²) correspondendo a 24, 40 e 80 alevinos por tanque e dos pais (p1 e p2) com duas repetições. Considerou-se para avaliação: sobrevivência (%), comprimento total (cm), peso (g). Não houve diferença significativa entre pais para comprimento ($p>0,01$) e peso ($p>0,01$). As diferenças nas médias de sobrevivência foram estatisticamente significativas ($p<0,01$) para densidade e pais. A interação entre pais e densidade foi significativa para comprimento, peso e sobrevivência ($p<0,01$). Os tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram os seguintes resultados, respectivamente: sobrevivência média de $70,83 \pm 30,99\%$, $76,88 \pm 16,38 \%$ e $69,06 \pm 23,90\%$, comprimento total $10,2 \pm 7,70$ cm, $9,84 \pm 7,08$ cm e $9,47 \pm 7,79$ cm, peso médio $9,78 \pm 2,23$ g, $8,39 \pm 1,63$ g e $7,99 \pm 7,68$ g.

Palavras chaves: Densidade de estocagem, *Rhamdia quelen*, criação de peixes.

2.2 Abstract

The experiment to evaluate the juveniles performance was conducted in 12 concrete pools 2,0 x 4,0 x 0,8m depth each one and lasted 127 days. The factorial model was used as an experimental delineation in order to evaluate the treatments effects (stocking densities: T1=3 fishes/m²; T2=5 fishes/m²; T3=10 fishes/m²) corresponding to 24, 40 and 80 fries per pool and the parents effects (P1 and P2)

with two repetitions. It has been considered in the evaluation: survival (%), total length (cm) and weight (g). It didn't have a significative difference between parents concerning length ($p>0.01$) and weight ($p>0.01$). The differences in average survival were statistically significative ($p>0.01$) for density and parents. The density and parents' interaction was significative for length, weight and survival ($p<0.01$). The T1, T2 and T3 treatments presented the following results, respectively: average survival $70.83 \pm 30.99\%$; $76.88 \pm 16.38\%$ and $69.06 \pm 23.09\%$, total length 10.2 ± 7.70 cm; 9.84 ± 7.08 cm and 9.47 ± 7.79 cm, average weight 9.78 ± 2.23 g; 8.39 ± 1.63 g and 7.99 ± 7.68 g.

Keywords: Stocking Density, *Rhamdia quelen*, fish breeding.

2.3 Introdução

A criação com baixa densidade leva a um sub aproveitamento do espaço disponível. A alta densidade prejudica a qualidade da água e pode causar mortalidade devido à degradação do excesso de alimento e pelos resíduos nitrogenados provenientes da excreção. A adição de resíduos de origem animal ou ração comercial em tanques de piscicultura promovem o enriquecimento com sais minerais provocando eutrofização, que acarreta o desequilíbrio na disponibilidade de oxigênio do meio (HEPHER; PRUGININ, 1985, TEIXEIRA et al., 1989, PIAIA; NETO, 1997).

A criação depende da espécie, do tamanho dos exemplares e do sistema de cultivo utilizado. A produção de peixes por unidade de área é uma função da taxa de crescimento e da densidade. A taxa de crescimento individual é afetada diretamente por fatores intrínsecos relacionados com suas características genéticas, seu estado fisiológico e fatores ambientais (GOLOMBIESK et al., 2003, BEHR et al., 1999, 2000, GUEDES, 1980, MOTTA et al., 1985).

Os fatores relacionados com a composição química da água, como o pH, a salinidade, a dureza, o oxigênio, a temperatura, o nível de metabólitos excretados e os alimentos disponíveis são afetados pela densidade e podem influir diretamente na produção. O manejo durante o transporte de alevinos, também pode afetar o desenvolvimento. Sempre que estes fatores dependentes da

densidade não limitem o crescimento, os peixes obtêm seu potencial máximo de crescimento fisiológico. Conhecendo-se o ponto de equilíbrio entre a densidade e o potencial de crescimento fisiológico do peixe pode-se obter melhor produtividade por unidade de área (GOMES et al., 2000; PIAIA et al., 2000, MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999, CHIPPARI-GOMES, 1998, TOWNSEND et al., 1997, FONTES et al., 1990, HEPHER; PRUGININ, 1985).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho nas progênes de *R. quelen*, filhos de pais capturados diretamente na natureza, criados em três densidades diferentes, quanto ao crescimento, ganho de peso e sobrevivência.

2.4 Material e Métodos

Três exemplares de *R. quelen* (dois machos e uma fêmea) foram capturados no leito poluído do rio Uberabinha em Uberlândia – MG, no local conhecido como curva da Av. Vasconcelos Costa, acima da ponte do Vau e submetidos ao processo de reprodução artificial com a técnica descrita por Woyнарovich e Horvath (1983). Dividiram-se os ovócitos em duas porções e realizou-se a fecundação a seco (MARDINI et al., 1981), misturando-se cada porção de ovócitos com o sêmen de cada macho separadamente.

Foram produzidos 1240 alevinos, sendo 507 oriundos da progênie do macho 1 e 733 da do outro macho que, a partir daí, foram caracterizados como pais 1 e 2, respectivamente. Selecionou-se 576 animais nas progênes dos pais 1 e 2, para comporem as unidades experimentais de avaliação do desempenho. Considerou-se como fator de seleção para a formação de dois lotes homogêneos, o intervalo compreendido entre o comprimento médio $52,5\text{mm} \pm 9,6\text{mm}$ para a progênie do p1 e $47,5\text{mm} \pm 8,5\text{mm}$ para a progênie do p2. Utilizaram-se as seguintes equações de regressão que representam a correspondência entre as variáveis comprimento ($y = \text{mm}$) e peso ($xi = \text{g}$): $y = 40,4303 + 9,4532 \text{ xi}$ ($r = 0,912907$, $p < 0,01$) e $y = 30,7317 + 16,9216 \text{ xi}$ ($r = 0,946467$, $p < 0,01$) para p1 e p2, respectivamente para a estimativa do peso dos alevinos selecionados.

O experimento foi conduzido conforme Kalil (1977), para o modelo experimental fatorial, com isolamento do efeito paterno (p1 e p2) sobre as progênies. Os tratamentos consistiram de três densidades (T1=3 peixes m²; T2=5 peixes m² e T3=10 peixes m²) com duas repetições por tratamento. Para as análises estatísticas utilizou-se o programa computacional SAS (1989).

O experimento foi montado na Estação de Piscicultura da Fazenda do Glória pertencente à Universidade Federal de Uberlândia. Utilizou-se 12 tanques de concreto medindo 2,0 x 4,0 x 0,8m de profundidade com sistema individual de abastecimento e drenagem. Estes foram adubados com 2kg de esterco curtido de gado e 0,2kg de calcário calcítico por m². Após a colocação dos alevinos foi realizada a renovação constante de 3 % do volume a cada 24 horas. Para evitar fuga cobriu-se as saídas d'água dos tanques com tela plástica mosquiteira com malha de 1,0mm.

A alimentação consistiu no fornecimento diário de ração comercial extrudada, com 40% de proteína bruta (PB), adquirida no comércio local, fornecida 2 vezes ao dia, à vontade, até que sobrasse pequena quantidade na superfície da água. Nos sábados, domingos e feriados o alimento era fornecido apenas uma vez.

O experimento teve duração de 127 dias, sendo que as análises dos fatores físico-químico da água como alcalinidade, oxigênio dissolvido, pH foram realizadas semanalmente com a metodologia descrita em A.P.H.A. (1971). A temperatura foi registrada diariamente na parte da manhã (9:00h) e à tarde (16:00h).

2.5 Resultados e Discussão

Os alevinos, em todos os tratamentos, permaneceram agrupados no fundo do tanque junto ao sistema de esvaziamento, onde o alimento, após ter sido umedecido e moldado com as mãos, era fornecido. Provavelmente este acúmulo de alevinos no local deveu-se às reentrâncias existentes no sistema de esvaziamento que criava sombras e pela ração concentrada naquele local.

Pela análise de variância não se constatou diferenças significativas nos diversos tratamentos para efeito de pais nas variáveis comprimento ($p>0,01$) e peso ($p>0,01$).

A Tabela 2.1 apresenta as médias de sobrevivência, comprimento total e peso médio dos 3 tratamentos.

Tabela 2.1 – Médias de sobrevivência, comprimento total e peso para os 3 tratamentos

Parâmetros	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Sobrevivência	70,83 ± 30,99%	76,88 ± 16,38%	69,06 ± 23,90%
Comprimento total	10,2 ± 7,70cm	9,84 ± 7,08cm	9,47 ± 7,79cm
Peso médio	9,78 ± 2,23g	8,39 ± 1,63g	7,99 ± 7,68g

A Tabela 2.2 mostra as médias dos comprimentos, pesos e sobrevivência dos peixes agrupadas por pais e tratamentos. As médias de T1 para comprimento e peso foram as maiores do grupo e diferiram estatisticamente das demais ($p<0,01$). Observa-se que aumentando a densidade, reduz-se o crescimento e ganho de peso. Hepher e Pruginin (1985), afirmaram que peixes criados em densidades menores tem um crescimento maior, porém o potencial de produtividade do tanque não é totalmente explorado.

A média geral de sobrevivência na progênie do p1 foi mais alta do que p2 ($p<0,01$). Houve efeito de interação entre pais e densidade ($p<0,01$) para todas as variáveis estudadas. As diferenças nas médias de sobrevivência foram significativas ($p<0,01$) para tratamentos e pais, sendo superiores para p1, T1 e T2.

Tabela 2.2 – Comparação entre as médias para os efeitos de pais e tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p>0,001$) pelo teste de Tuckey

Média	Comprimento (cm)	Peso (g)	Sobrevivência (%)
p1	9.92a	8.99a	75.99a
p2	9.85a	8.48a	71.65b
T1	10.3a	10.06a	74.71a
T2	9.83b	8.36b	78.83a
T3	9.52c	7.79c	67.92b

A Tabela 2.3 apresenta o desdobramento dos tratamentos com as combinações para compreensão das interações.

Tabela 2.3 – Comparação dos efeitos de interação entre os tratamentos e as variáveis estudadas. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,001$)

Médias País	Comprimento (cm)		Peso (g)		Sobrevivência (%)	
	p1	p2	p1	p2	p1	p2
T1	10.52a	10.08abc	10.94a	8.06cd	55.26c	94.17a
T2	9.91b	9.76bc	9.19ba	7.38d	85.07d	72.59b
T3	9.33c	9.72bc	8.65bc	8.2bcd	87.63d	48.2c

A sobrevivência dos peixes nas 12 unidades experimentais está sumarizada na Figura 2.1.

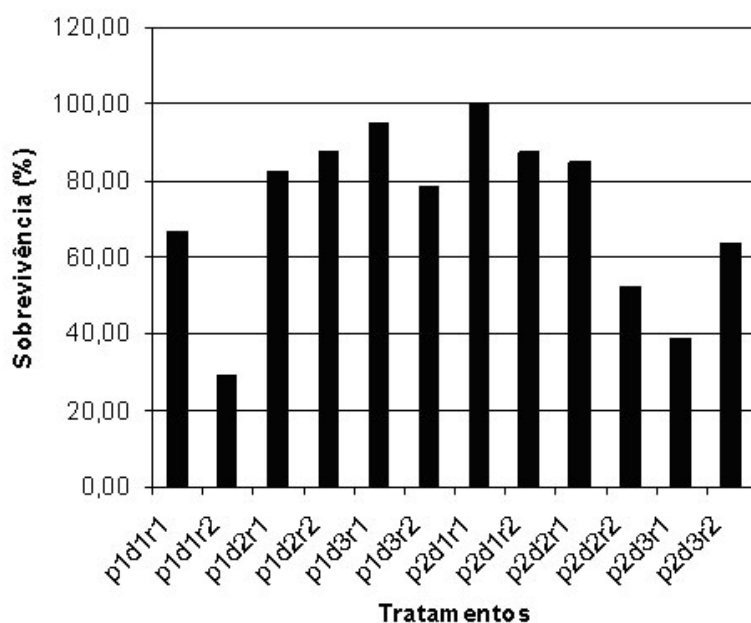


Figura 2.1: Taxa de sobrevivência de *R. quelen* nas diversas parcelas experimentais (p, d e r significando pai, densidade e repetição respectivamente)

A adubação e calagem iniciais ocasionaram uma elevação na alcalinidade até a quinta semana quando permaneceu em queda constante até o final do trabalho (Figura 2.2). Esta queda acentuada pode ser considerada prejudicial ao desenvolvimento dos peixes, uma vez que a dureza em carbonatos tem um efeito tamponador sobre o pH. Estes peixes podem tolerar até 600 mg/l de CaCO_3

porém, o seu melhor desenvolvimento ocorre com dureza entre 30,0 mg/l CaCO_3 e 70,0 mg/l CaCO_3 (TOWNSEND et al., 2003).

O pH também sofreu queda acentuada atingindo níveis de até 4,5 (Figura 2.2). A escala de pH é logarítmica, a alteração de uma unidade nesta escala representa uma mudança de 10 vezes em relação à concentração anterior. Mudanças relativamente pequenas no pH podem ser perturbadoras para os peixes. A exposição a águas ácidas ou alcalinas provoca uma redução dos níveis corporais de Na^+ e K^+ , sendo que os jundiás resistem bem ao pH na faixa de 4,0 a 8,5, com melhor crescimento nas faixas mais altas (GOMES et al., 2000, LOPES, 1998). Houve um aumento gradativo na quantidade de oxigênio dissolvido (OD) estabilizando-se nos níveis mais altos na fase final (Figura 2.2). Teores acima de 3 mg/l são considerados satisfatórios para a produção de peixes (HEPHER; PRUGININ, 1985). A renovação diária da água pode ter favorecido este aumento pela eliminação dos resíduos sólidos e metabólitos dos peixes que também são grandes consumidores deste gás.

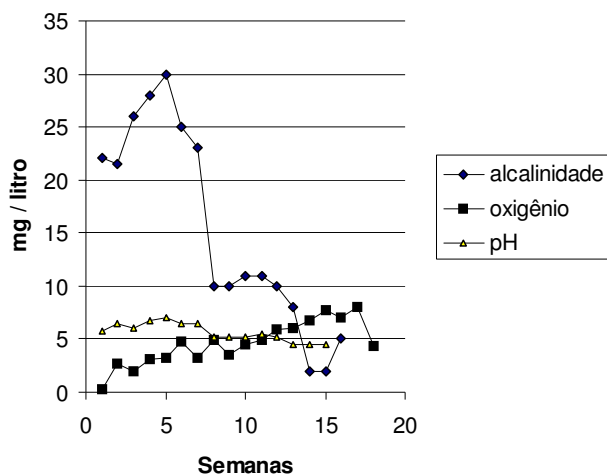


Figura 2.2 – Parâmetros físico-químicos da água.

Durante a condução do experimento, optou-se pela não interferência na adequação destes parâmetros físico-químicos, para que os peixes pudessem evidenciar características adaptativas a estas condições. A falta de controle para ajustar provavelmente influenciou negativamente no resultado final de comprimento e peso dos peixes. Vários autores consideram os fatores ambientais fundamentais

na produção artificial de peixes (MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999; GOMES et al., 2000; PIAIA et al., 2000).

Chippari-Gomes (1998), verificou que esta espécie pode ser considerada euritérmica, suportando temperaturas de 15°C a 34°C. A amplitude diária da temperatura entre os períodos da manhã e à tarde e o período total da criação foi de 3°C e 8°C respectivamente. As temperaturas mínima e máxima foram respectivamente 22,5°C e 30°C. As variações nas médias da temperatura da água nos tanques no período de criação e oscilações diárias são mostradas na Figura 2.3.

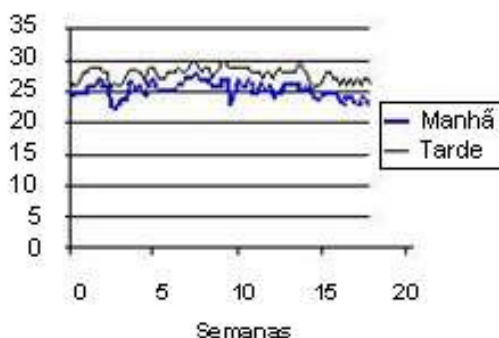


Figura 2.3 – Variação da temperatura da água.

2.6 Conclusões

Os peixes criados em menor densidade apresentaram maior peso corporal, comprimento total e taxa de sobrevivência.

2.7 Referências Bibliográficas

A.P.H.A - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standart methods for the examination of water and wasterwater**, 14. ed. Washington, 1971. 874p.

BEHR, E.R.; RADANUZ NETO, J.; TRONCO, A.P. ; FONTANA, A.P. Influência de diferentes níveis de luminosidade sobre o desempenho de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy e Gaimard, 1824) (Pisces: Pimelodidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 2, p. 325 - 330, 1999.

BEHR, E.R.; TRONCO, A.P.; RADANUZ NETO, J. Ação do tempo e da forma de suplementação alimentar com *Artemia franciscana* sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas de jundiá. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 503 - 507, 2000.

CHIPPARI-GOMES, A. R. **Temperaturas letais de larvas e alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824 – Pisces, Pimelodidae)**. 1998. 70f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FONTES, N. A.; SENHORINI, J.A.; LUCAS, A. F. B. Efeito de duas densidades de estocagem no desempenho larval do paqui, *Piaractus mesopotamicus* (fêmea) (HOLMBERG, 1887) x *Colossoma macropomum* (macho) (CUVIER, 1818), em viveiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, v. 3, n. único, p. 23 - 32, 1990.

GOLOMBIESK, J. I.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B.; SILVA, J. H. S. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. **Aquaculture**, v. 216, p. 95 - 102, 2003.

GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, *Pimelodidae*) **Ciência Rural**, Santa Maria v. 30, n. 1, p. 179 - 185, 2000.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia quelen*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, *Pimelodidae*)**. 1980. 99f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

HEPHER, B.; PRUGININ, Y. **Cultivo de peces comerciales**: Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel. Tradução de Canudas, L. F.; Acuña, E. E. Mexico: Granjas San Antonio, 1985. 316 p.

KALIL, E. B. **Princípios de técnica experimental com animais**. 2a reimpressão. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo: Piracicaba, 1977. 210p.

LOPES, J.M. **Influência do pH da água na sobrevivência e crescimento de larvas de jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy E Gaimard, 1824 – Pisces, *Pimelodidae*) em duas épocas de desovas**. 1998. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MARCHIORO, M.I.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 315 - 318, 1999.

MARDINI, C.V.; SILVEIRA, M.A.; BARDENHO, D.H.L. **Técnica de indução da desova em jundiá (*Rhamdia quelen*) empregada na estação experimental de piscicultura da Lagoa dos Quadros**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1981. 14 p. (Documento ocasional, 4).

MOTTA, H.C.G.; FIALHO, F.B.; TEJERINA, F.L.G. Estudo do hábito alimentar de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces, Siluriformes, *Pimelodidae*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 12.; 1985. Campinas. **Anais...** Campinas: CBZ, 1985. p. 178.

PIAIA, R.; NETO, J.R. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 319 - 323, 1997.

PIAIA, R.; NETO, J.R.; BALDISSEROTTO, B. Densidade de estocagem e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 509 - 513, 2000.

SAS – Statistical Analysis System. User's Guide. Version 6, SAS INSTITUTE INC. 4. ed. North Caroline: SAS INSTITUTE, 1989. 846 p.

TEIXEIRA, L.M.; GUILHERME, L.C.; SILVA, A.T. Qualidade de água para piscicultura em função de diferentes tipos de resíduos. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 13, n1, p. 86 - 96, 1989.

TOLEDO-FILHO, S.A. Híbridação e Conservação Genética de Peixes. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto. v. 15, n. 1, p. 222 - 226, 1992.

TOWNSEND, C.R.; PIAIA, R.; BALDISSEROTTO, B. Tolerância de alevinos de *Rhamdia quelen* (jundiá) a variações de pH e de dureza da água utilizada no cultivo. In: ENCONTRO ANUAL DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 26. 1997. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SFRES, 1997. p. 65.

TOWNSEND, C.R.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness, **Aquaculture**, v.215, p. 103 -108, 2003.

WOYNAROVICH, C.H.; HORVATH, L.A. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais:** manual de extensão. Brasília: FAO/Codevasf/CNPq, 1983. 220p.

CAPÍTULO 3 – Desenvolvimento de sistema simplificado de recirculação de água para criação de peixes.

3.1 - Resumo

O uso da água e a localização dos tanques de piscicultura em áreas de preservação permanente são questionados pelas autoridades e ambientalistas, quanto aos resíduos solúveis e matéria orgânica carregados para os córregos. No entanto, a melhoria do sistema de criação, das rações industriais e simplificação das análises para avaliar a qualidade da água, permitiram aumentar a produção de pescado. Desenvolver sistemas de alta produtividade com reutilização da água em pequenas áreas urbanas permitirá produzir pescado com maior controle zootécnico. Os objetivos deste trabalho foram: a) desenvolver um sistema simplificado para criação de peixes com recirculação da água e um reator aeróbio de construção artesanal para eliminação dos resíduos metabólicos com dois alimentadores; b) testar a viabilidade do sistema mediante o desenvolvimento de várias espécies de peixes em diferentes densidades, pesos e idades. *Oreochromis niloticus* foram criadas por um período de 262 dias, divididos em sete ensaios. *Clarias gariepinus* foram testados em um único ensaio, com duração de 150 dias. *Leporinus sp* foram criados em 180 dias, divididos em três ensaios. *Rhamdia quelen* foram criados por 30 dias para produção de juvenis. No período compreendido entre fevereiro de 2002 a dezembro de 2004, os equipamentos que fazem parte do sistema foram utilizados de forma ininterrupta, sem que apresentassem problemas ou ineficiência.

Palavras chaves: Amônia, nitrificação, criação intensiva de peixes, alimentador automático, Alevinos, produção intensiva, alimentador automático, biofiltro, *Rhamdia quelen*

3.2 - Abstract

The water use and the aquaculture pools' localization in permanent preservation areas are questioned by ambientalist and authorities, concerning the soluble residues and organic materia carried to the streams. However, the improve in the raising system, in the industrial rations and the simplification of analysis to evaluate the water quality, permitted increase fish production. Developing systems of high productivity with water reusage in small urban areas will permit the production of fish within a greater zootecnic control. The purposes of this paper were: a) to develop a simplified system to raise fish with water recirculation and a handmade aerobic reactor to eliminate the metabolic residues with tow feeders; b) to testify the viability of the system by means of the development of several fish species using different densities, weights and ages. *Oreochromis niloticus* were bred in a period of 262 days divided in 7 assays, *Clarias gariepinus* were tested in a single assay in 150 days. *Leporinus sp* were raised in 180 days were divided in 3 assays. *Rhamdia quelen* were bred in 30 days for young production. In a period ranging from February 2002 to December 2004, the equipments which take part in the system were used constantly, presenting no problems or inefficiency.

Key words: Ammonia, nitrification, intensive fish breeding, automatic feeder, Fries, intensive breeding, automatic feeder, biofiltre, *Rhamdia quelen*.

3.3 - Introdução

O uso da água nos vários sistemas de produção de pescado, pode ser limitante para o crescimento da aqüicultura em condições particulares, portanto, a possibilidade da criação artesanal para consumo, assegurando o consumo per capta e segurança alimentar, é uma opção de produção com forte cunho social, que pode ser executada pela população em geral. Atualmente, com a escassez dos recursos hídricos, seja por condições climáticas, seja pelo crescimento mundial da população ou ainda pela intervenção do ser humano no ambiente,

tem-se tornado cada dia mais intensa, afetando a qualidade, a disponibilidade e a capacidade natural de autodepuração dos corpos d'água. O consumo da água duplica de 20 em 20 anos (mais que o dobro do aumento populacional), o abastecimento de futuras gerações pode estar comprometido (PIOLI, 2005, SANTOS; SOUZA, 2005).

A criação de organismos aquáticos em sistema de recirculação acoplado a reator aeróbio é uma atividade em desenvolvimento, porém, a construção destes sistemas geralmente é cara e exige mão de obra especializada para cuidar da sua manutenção. Em laboratório, é utilizado para a criação de espécimes destinados a estudos biológicos, condicionamento de peixes para alimentação, produção de larvas e alevinos. Outros organismos, como os rotíferos e microcrustáceos, também são criados neste sistema (SUANTIKA et al., 2003, GROMMEN et al., 2002, SADEK et al., 1992, KOILLER; AVTALION, 1985, SORGELOOS; PERSOONE, 1972).

No estado de Minas Gerais, são cada vez mais rigorosas as exigências legais para o licenciamento ambiental para construção de tanques escavados nas propriedades rurais. Outro fato agravante é o aumento no número de furtos que ocorrem nos criatórios convencionais elevando os custos com vigilância. Perda do pescado por ação de predadores naturais também resulta em constante prejuízo para os produtores, principalmente nas primeiras fases da criação. Desenvolver técnicas de criação e manejo em sistema de circulação fechada poderá reduzir as perdas de peixes e, ainda existe a possibilidade de se empregar galpões localizados na área urbana, para esta prática, próximos do consumidor final.

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver um sistema simplificado para criação de peixes com recirculação da água acoplada a um reator aeróbio de construção artesanal para eliminação dos resíduos metabólicos, dois alimentadores e, testar a viabilidade do sistema mediante o desenvolvimento de várias espécies de peixes em diferentes densidades, pesos e idades.

3.4 - Material e Métodos

3.4.1 – Adaptação artesanal do Sistema de Recirculação, Reator Aeróbio e Tanque para Criação de Peixes.

Para o desenvolvimento do sistema simplificado para criação de peixes com recirculação de água foram utilizados/adaptados os seguintes materiais: uma caixa de fibra de vidro com 0,90m x 0,80m x 0,45m (0,32m³), um tambor plástico de 100 litros, um suporte de ferro para caixa de fibra, 0,5m² de manta de revestimento, três pedaços, de 1,10m de comprimento, de tubo de PVC de 100 mm de diâmetro e 10m de corda de polietileno com 1,5 cm de diâmetro, desfiada em forma de cabeleira (Itacorda Ltda.). Dois aquecedores e termostatos 220v 300 Watz (Aristos Ltda.), ajustados para 26°C e 27°C. Uma moto bomba multiuso submersa modelo SB2000 220 V, 30 W (Sarlo Better Equipamentos Ltda.), com vazão ajustada para 380 l/hora. Dois compressores de aquários de 30 W com duas saídas de ar cada um (Rebello e Ferreira Ltda.), mangueira transparente de cinco mm de diâmetro e pedra porosa (Figura 3.1 e 3.2).

O sistema foi instalado no Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

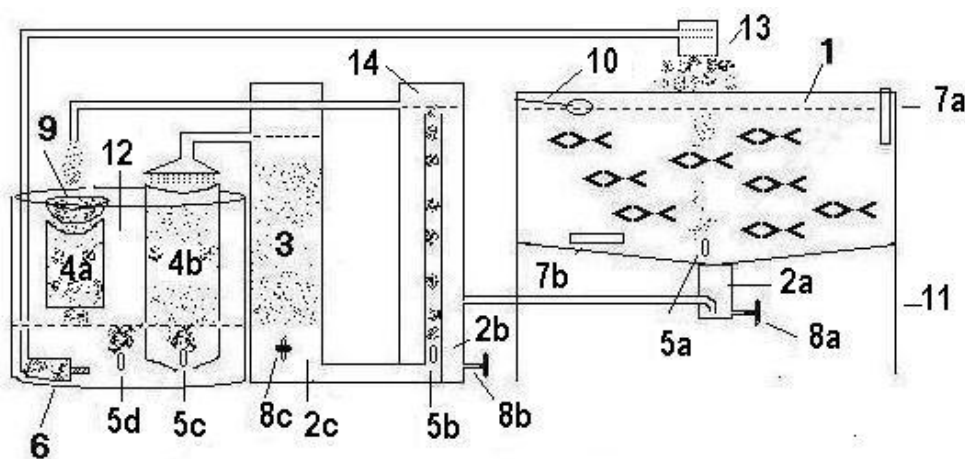


Figura 3.1 – Ilustração (sem escala) do sistema de produção de peixes montado no Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU.

Legenda: 1 Caixa de criação; 2(abc) Locais de decantação; 3 Filtro submerso; 4(ab) Reator aeróbio; 5(abcd) Aeradores; 6 Bomba de elevação da água; 7(ab) Aquecedores com termostato; 8(abc) Válvulas para drenagem; 9 Filtro; 10 Bóia; 11 Suporte de ferro; 12 Reservatório do reator aeróbio; 13 Dispensor; 14 Coluna vaso comunicante



Figura 3.2 - Sistema de produção de peixes instalado no Laboratório de Citogenética Animal do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU.

3.4.2 - Adaptação de garrafas PET para confecção de alimentadores para peixes.

3.4.2.1 - Alimentador automático:

O alimentador automático tem como função fornecer ração continuamente em pequenas porções, de modo a suprir as necessidades dos peixes.

O material necessário para sua montagem pode ser observado nas Figuras 3.3 e 3.4. A Figura 3.5 mostra o alimentador automático montado após 2 anos, em funcionamento.

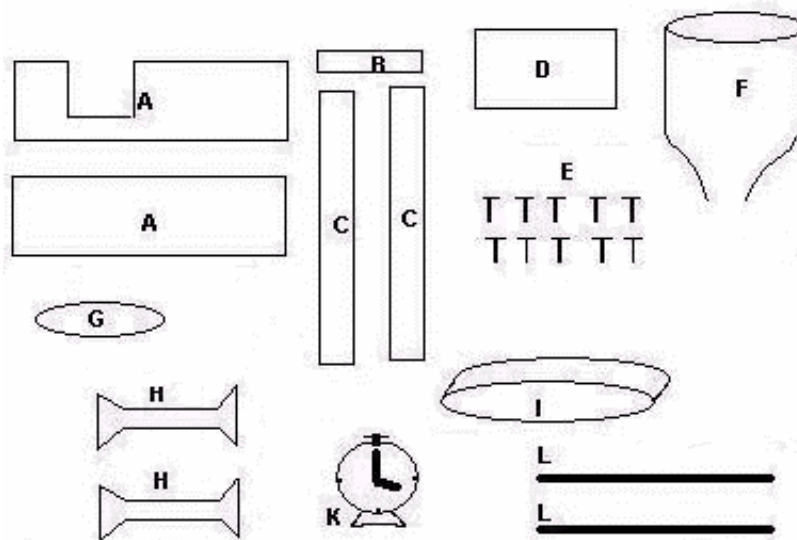


Figura 3.3 – Material necessário para construção do alimentador automático: 2 tábuas de 30 cm de comprimento, 10 cm de largura e 1 cm de espessura, sendo uma com recorte proporcional ao diâmetro do relógio despertador (A); 1 tábua de 12 cm de comprimento e 5 cm de largura e 1 cm de espessura (B); 2 tábuas de 35 cm de comprimento e 5 cm de largura e 1 cm de espessura (C); 1 tábua de 20 cm de comprimento e 10 cm de largura e 1 cm de espessura (D); 10 pregos de 15 x 15 (E); 1 garrafa PET (2 litros sem fundo) (F); 1 liga de borracha (G); 2 carretéis (H); Esteira em papel (20 cm x 5 cm) (I); 1 relógio de corda manual do despertador (K); 30 cm de arame com 3 mm de diâmetro para eixos (L) e Fita adesiva.

Montagem: Prender os carretéis (H) aos eixos de arame (L); Pregar a tábua (D) às duas tábuas (A); Pregar a tábua (B) às duas tábuas (C) formando uma alça; Fixar o relógio (K) com os ponteiros voltados para fora, no recorte da tábua (A) e fixar o eixo central do relógio a um dos eixos da esteira (L, H); Fixar o outro eixo (L, H); Recortar uma tira de papel (I) com cinco cm e fixá-la com fita adesiva aos eixos (L, H); Fixar a garrafa PET (F) com uma liga de borracha (G) (Figura 3.4).

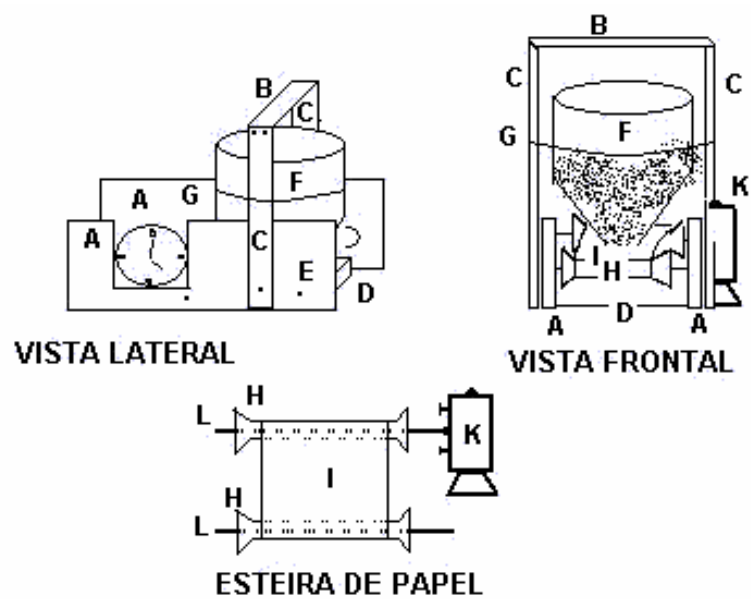


Figura 3.4 – Detalhes do alimentador automático.



Figura 3.5 – Alimentador automático em funcionamento

3.4.2.2 - Alimentador de demanda:

O alimentador de demanda tem o papel de alimentar os peixes continuamente e à vontade, através da movimentação voluntária da haste de arame que controla o fornecimento de ração.

É necessário o seguinte material que consta da Figura 3.6: 20 cm de arame com 0,3 cm de diâmetro; 30 cm de arame com 0,3 cm de diâmetro; Garrafa PET de 2 litros sem o fundo; Círculo de borracha com 4 cm de diâmetro.

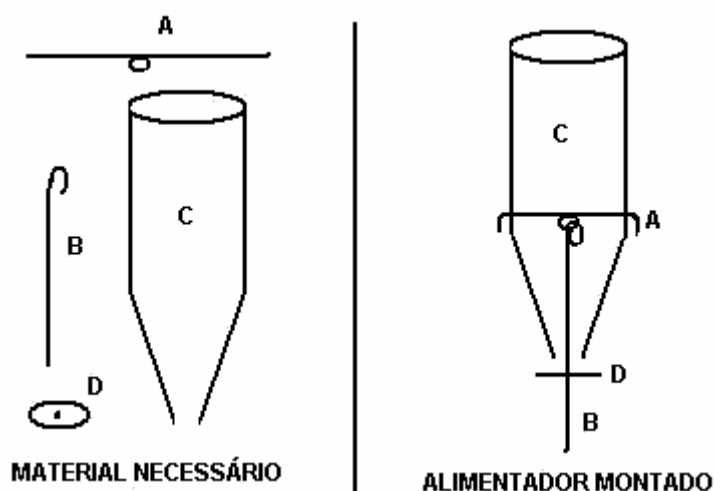


Figura 3.6 – Detalhes do alimentador de demanda.

Montagem: Fixar os arames (A) e (B) pelas argolas; Fixar e dobrar as pontas do arame (A) na parte mediana da garrafa, deixando o arame (B) sair pelo bico da garrafa; Fixar o círculo de borracha ao arame (B), deixando-o próximo do bico da garrafa; Pintar de amarelo cinco mm da ponta do arame (B) que ficará submersa. Em ambos alimentadores, as garrafas PET servem como depósito para ração.

3.4.3 - Operação do sistema:

A operação do sistema simplificado para criação de peixes com recirculação de água (Figura 3.1), consiste no bombeamento da água a partir do reservatório do reator aeróbio (12), pela qual é conduzida por mangueira de plástico até o dispersor (13), caindo diretamente sobre a caixa de criação (1). A entrada desta

água força a circulação através da coluna vaso comunicante (14) entre a caixa de criação (1) e o reservatório do reator aeróbio (12). Os resíduos alimentares e fezes são depositados nos locais de decantação (2abc). Os resíduos mais pesados ficam retidos ali e devem ser drenados para fora do sistema através das válvulas de drenagem (8abc). A água que sobe a coluna vaso comunicante (14) possui dois destinos: Uma parte contendo sólidos em suspensão mais os resíduos metabólicos dissolvidos, como TAN e CO_2 fluem diretamente para o filtro (9) onde são retidas as partículas em suspensão e daí passa direto para o reator aeróbio (4a), a outra parte desce pela coluna vaso comunicante em sua coluna central fortemente aerada e flui para o filtro submerso (3) caindo a seguir no reator aeróbio (4b), reiniciando o ciclo.

Os reatores aeróbios (4ab) são preenchidos com corda plástica desfiada que serve de substrato para fixação das colônias de bactérias e é onde ocorre com mais intensidade o processo de nitrificação. A manta de revestimento de móveis que faz parte do filtro (9) deve ser retirada e lavada diariamente, não sendo necessário a troca da mesma. A água flui através da manta para o reservatório do reator aeróbio (12). A aeração é ascendente na parte central da coluna vaso comunicante (14), no reator aeróbio (4b) e na caixa de criação (1). Com este movimento contínuo ocorre a diluição dos resíduos em suspensão e um conseqüente aumento da superfície de contato que facilita a atuação bacteriana. A bóia (10) repõe no sistema a água perdida por evaporação e drenagem. Os aquecedores (7ab) mantêm constante a temperatura da água que pode ser ajustada manualmente nos termostatos que controlam o funcionamento dos aquecedores. A aeração com o uso dos compressores de aquário é feita na caixa de criação (1), na parte interna da coluna vaso comunicante (14), no reservatório do reator aeróbio (12) e na base do reator aeróbio (4b).

No Alimentador automático, a liga de borracha (Figuras 3.3 e 3.4) serve para prender a garrafa PET ao conjunto e possibilita a regulação da altura entre o bico da garrafa e a esteira de papel. Esta adaptação permite controlar a quantidade de ração fornecida aos peixes. A força da mola do relógio despertador move a esteira na velocidade do ponteiro que marca os minutos e esta conduz a ração que cai em pequena quantidade na caixa de criação (1). A movimentação

da esteira é proporcional ao diâmetro do carretel acoplado ao eixo do despertador. O perímetro do carretel pode ser calculado pela fórmula da circunferência $2\pi r$, onde r é o raio do carretel. Como o eixo do ponteiro de minutos gasta 1 hora para completar uma volta e sendo o carretel tracionado por este, pode-se inferir que $2\pi r/60$ é a distância percorrida pela esteira no prazo de 1,0 minuto. Associando-se esta informação com a distância entre o bico da garrafa e a esteira pode-se controlar a quantidade de ração fornecida em um determinado tempo.

No Alimentador de demanda (Figura 3.4), a regulação para fornecimento da ração é feita pelo ajuste da altura do círculo de borracha (Figura 3.4 letra D) de encontro com o bico da garrafa PET (Figura 3.4 letra C). Os peixes, ao tocarem a ponta pintada de amarelo do arame em contato com a água (Figura 3.4 letra B) fazem cair ração. A adaptação é rápida, com fornecimento de ração à vontade.

3.4.4 - Produção

O sistema foi povoado inicialmente com alevinos de tilápia (*O. niloticus*) por um período total de 232 dias subdivididos em seis ensaios, o primeiro de 90 dias, os quatro subseqüentes com duração de 28 dias cada um e no sexto, a duração foi de 30 dias. Realizou-se também um sétimo ensaio com duração de 30 dias, sendo sua avaliação considerada como repetição para comparação após a estabilização do sistema.

Em períodos subseqüentes, foi utilizado na criação do bagre africano (*Clarias gariepinus*), em um único ensaio com duração de 150 dias; do piavuçu (*Leporinus sp*), em três ensaios sendo o primeiro de 120 dias, e os dois restantes com 30 dias cada; na formação de juvenis do jundiá (*Rhamdia quelen*) em um ensaio de 30 dias. Os períodos dos ensaios variaram em função da espécie e tamanho inicial dos peixes.

Empregou-se nos ensaios de criação, ração extrudada com peletes de 2mm, 40% de proteína bruta (PB) (Nutron Alimentos Ltda.). Em todos os ensaios com duração até 30 dias utilizou-se o alimentador automático, e a partir daí o alimentador de demanda.

O consumo de ração aumentou constantemente estabilizando-se próximo de 72g. O pH variou de 6,4 a 7,5. Os valores mais baixos ocorreram no início da fase de adaptação, mas estabilizou-se após a aplicação do bicarbonato de Sódio. O bicarbonato de Sódio foi pesado e adicionado diretamente na caixa de criação seguindo as recomendações de Ebeling et al. (1995).

A partir do 30º dia de instalação considerou-se estabilizado o conjunto. O alimentador automático foi substituído pelo alimentador de demanda. Modificou-se também a maneira de adicionar o bicarbonato de Sódio. Após a diluição do bicarbonato de Sódio em água, esta foi colocada em uma garrafa tipo PET em um nível mais alto permitindo o gotejamento constante da solução alcalina sobre a água da caixa de criação. Esta mudança no manejo foi com o intuito de distribuir uniformemente as quantidades do produto ao longo do dia.

A água retirada diariamente junto com os sedimentos orgânicos e perdas por evaporação foi substituída, correspondendo a mais ou menos 3% do volume total. Como rotina diária promoveu-se a lavagem do filtro e abertura das válvulas de drenagem.

A temperatura manteve-se constante, estabilizando-se próximo de 27 °C.

O suprimento do oxigênio necessário para a realização das reações metabólicas foi adequado e por último o tamponamento do pH também foi satisfatório.

Após o primeiro mês de ensaio, ocorreu o restabelecimento nos níveis de OD e com redução nos teores de TAN para próximo de zero permanecendo assim até o final do experimento.

A adição do bicarbonato de Sódio regulou o pH e a alcalinidade, e foram ajustados pelas recomendações de Ebeling et al. (1995). A proporção da TAN em amônia tóxica foi estimada conforme Francis-Floyd e Watson (1990). A TAN foi ajustada considerando-se a quantidade de proteína bruta (PB) do alimento e foi obtida indiretamente dividindo-se a quantidade de PB presente no alimento pelo fator 6,25 (ISLABÃO, 1985).

Restabelecidas as condições favoráveis passou-se a fornecer ração à vontade, em função do consumo, mas tendo-se o cuidado para evitar sobras.

A temperatura da água foi medida com termômetro de mercúrio e controlada por aquecedor e termostato. O pH e a alcalinidade foram corrigidos com a adição de bicarbonato de Sódio. O bicarbonato de Sódio foi diluído em água, à parte, na razão de 10g/litro e foi adicionado por gotejamento sobre água do sistema simplificado de criação de peixes com recirculação de água. Para análise da qualidade da água foram obtidos parâmetros de alcalinidade, pH, OD e amônia total empregando-se kit comercial (Red Sea. Co.). No primeiro povoamento utilizaram-se alevinos de *O. niloticus* e foi feito com o objetivo de estabilizar o sistema e teve duração de 90 dias. Após o povoamento iniciou-se o fornecimento de ração utilizando-se o alimentador automático. Logo a seguir ajustou-se a temperatura da água em 27°C. A Figura 3.7 mostra a variação dos parâmetros físico-químicos analisados. As análises foram realizadas diariamente nos primeiros 90 dias, a partir daí como monitoramento do sistema, semanalmente.

Para avaliação do desempenho, devido às diferenças nos tamanhos iniciais e duração dos ensaios, foi usada a fórmula para cálculo da Taxa de Crescimento Específico (G) (SADEK et al., 1992, RICKER, 1979), que indica a % de ganho de peso diário. $G = ((\ln W_f - \ln W_o) / (t_2 - t_1)) * 100$ onde W_o = peso inicial, W_f = peso final e $(t_2 - t_1)$ = tempo de crescimento em dias.

Utilizou-se o programa Systat 5.04 para análise estatística e produção dos gráficos.

3.5 - Resultados e Discussão

No período compreendido de fevereiro de 2002 a dezembro de 2004 os equipamentos que fazem parte do sistema foram utilizados de forma ininterrupta, sem que apresentassem problemas ou ineficiência.

3.5.1 - Ensaios de produção com tilápias (*O. niloticus*)

O primeiro ensaio, utilizando *O. niloticus*, foi conduzido com ênfase na formação das colônias de bactérias nitrificantes e adaptação do sistema ao

manejo. Iniciou com 320 alevinos, biomassa de 384g (média = 1,5g). A biomassa ao final do período foi de 5,566kg com peso corporal médio de $25,53 \pm 18,89$ g, Taxa de Crescimento Específico (G) = 3,15%, conversão alimentar de 0,89:1 e sobrevivência de 68,75%. A biometria foi realizada aos 90 dias obtendo-se medidas de peso e comprimento total. Do segundo ao sexto ensaio foi possível testar a viabilidade de funcionamento e estabilidade do sistema.

A mortalidade aumentou gradativamente até a 4^a semana reduzindo a seguir, coincidindo com a restauração de condições favoráveis como elevação de OD e redução da TAN (Figura 3.7). A redução da amônia para nitrito e nitrato foi acompanhada pela queda do pH, o que já era esperado conforme descrito em Hargreaves e Kucuk (2001), Boyd (1982), Branco (1970), Carter; Nieves (sd).

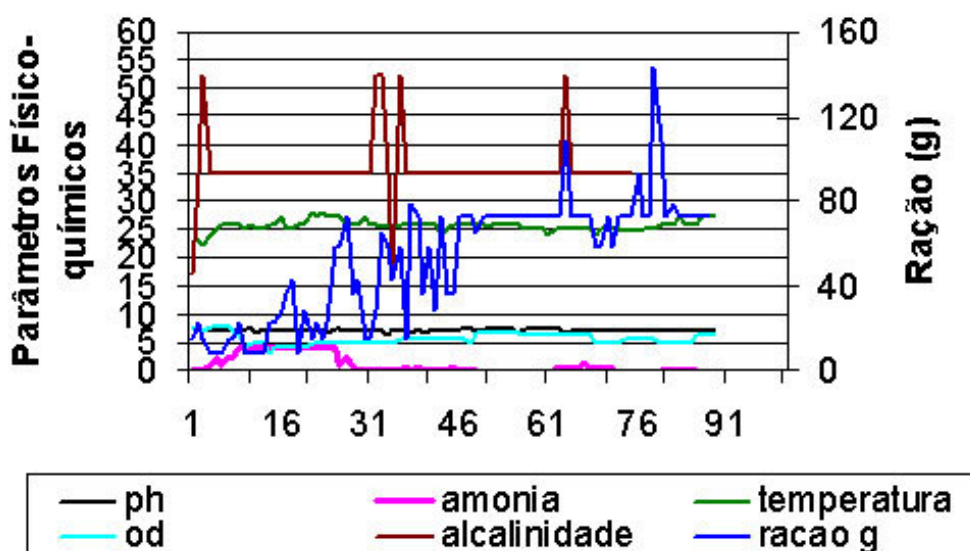


Figura 3.7 – Comportamento das variáveis físico-químicas da água e consumo de ração na fase de estabilização do sistema, povoado com alevinos de *O. niloticus*

O segundo ensaio com duração de 28 dias, iniciou com 76 juvenis, biomassa de 3,598kg, com peso corporal médio de $47,35 \pm 14,78$ g. Ao final do ensaio a biomassa foi de 6,022kg, com peso corporal médio de $81,38 \pm 23,40$ g; G = 1,94%, conversão alimentar de 0,88:1 e sobrevivência de 97,37%.

O terceiro ensaio com duração de 28 dias, iniciou com 15 juvenis, biomassa de 1,506kg com peso corporal médio de $100,40 \pm 13,04$ g. Ao final com biomassa

de 2,761kg com peso corporal médio de $184,07 \pm 23,78\text{g}$, $G = 2,17\%$, conversão alimentar de 1,00:1, sobrevivência de 100%.

O quarto ensaio com duração de 28 dias, iniciou com 15 tilápias, biomassa de 2,393kg, com peso corporal médio de $184,07 \pm 23,78\text{g}$. Ao final a biomassa foi 3,461kg, com peso corporal médio de $266,23 \pm 34,40\text{g}$, conversão alimentar de 1,13:1, $G = 1,32\%$, sobrevivência de 86,70%.

O quinto ensaio com duração de 28 dias, iniciou com 13 tilápias, biomassa de 3,461kg, com peso corporal médio de $266,23 \pm 34,40\text{g}$. Ao final a biomassa foi de 4,256kg, com peso corporal médio de $327,38 \pm 44,99\text{g}$, conversão alimentar de 1,11:1, $G = 0,74\%$, sobrevivência de 100,00%.

O sexto ensaio com duração de 30 dias, iniciou com 12 peixes, biomassa de 3,924kg, com peso corporal médio de $327,00 \pm 46,66\text{g}$. A biomassa ao final foi de 4,641kg, com peso corporal médio de $386,8 \pm 62,1\text{g}$, conversão alimentar de 0,96:1, $G = 0,56\%$ e sobrevivência de 100%. A Figura 3.8 mostra a relação das variáveis peso (g) e comprimento (cm) e o período de duração dos 6 ensaios.

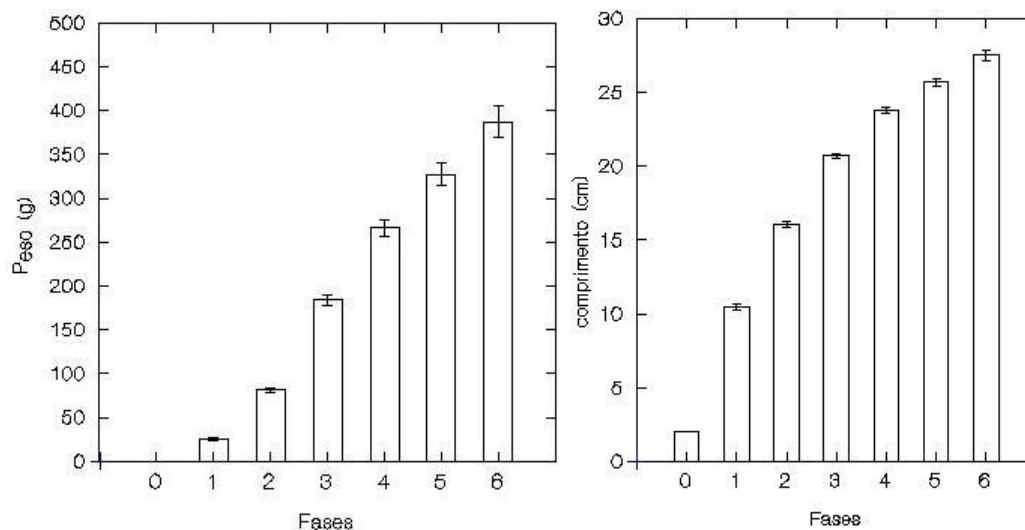


Figura 3.8 – Produção de *O. niloticus* (diferença entre 0 e 1= 90 dias; entre 1 e 2; entre 2 e 3; entre 3 e 4; entre 4 e 5: 28 dias; entre 5 e 6: 30 dias).

O sétimo ensaio com duração de 30 dias, iniciou com 277 alevinos, biomassa de 0,324kg com peso corporal médio de $1,19 \pm 0,45\text{g}$, comprimento total $3,50 \pm 0,48\text{ cm}$. Ao final a biomassa foi de 1,342kg com peso médio de $4,95 \pm 2,5\text{g}$ e $6,04 \pm 1,29\text{ cm}$ de comprimento, com um ganho líquido de 1,018kg; $G =$

4,75%, sobrevivência de 97,83% e conversão alimentar de 0,57:1. A Figura 3.9 mostra a relação das variáveis peso (g) e comprimento (cm).

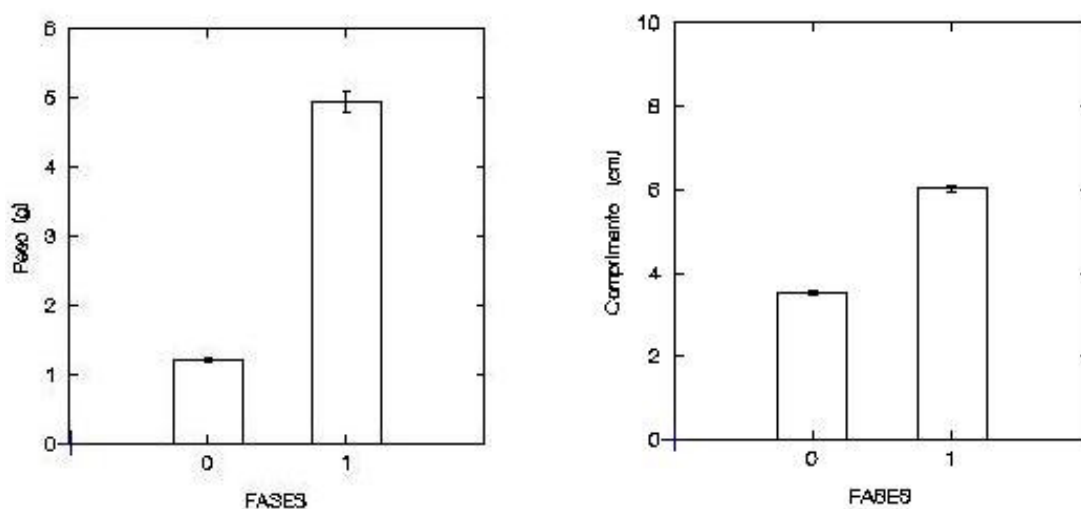


Figura 3.9 – Sétimo ensaio com alevinos de *O. niloticus* (diferença entre 0 e 1: 30 dias)

A Tabela 3.1 resume os índices zootécnicos obtidos para a criação de *O. niloticus* durante um ciclo completo de 232 dias.

Tabela 3.1 – Índices zootécnicos dos seis ensaios com *O. niloticus*

Índices	Ensaio					
	Primeiro	Segundo	Terceiro	Quarto	Quinto	Sexto
Dias de crescimento (DC)	90	28	28	28	28	30
Média peso início (g)	0,2	47,3±14,8	100,4±13,0	184,08±24,8	266,2±34,4	327,0±46,7
Média peso final (g)	25,5±18,9	81,4±23,4	184,1±23,8	266,2±34,4	327,4±45	386,8±62,1
Densidade (nº. peixes/ m ³)	1000	260	50	40	40	37,5
Densidade / tanque	320	76	15	15	13	12
Peixes despescados	220	74	15	13	13	12
Taxa sobrevivência (%)	68,75	97,37	100,00	86,67	100,00	100,00
Biomassa inicial (BI) kg	0,384	3,598	1,506	2,393	3,461	3,924
Biomassa final (BF) kg	5,566	6,022	2,761	3,461	4,256	4,641
Ganho de peso GP=(BF-BI)	5,182	2,424	1,255	1,068	0,795	0,717
Produção acumulada	5,182	7,510	8,765	9,833	10,628	11,345
Conv. alimentar (CA = AC/GP)	0,89	0,88	1,00	1,13	1,11	0,96
Alimento consumido AC (kg)	4,608	2,124	1,260	1,210	0,886	0,691
Consumo acumulado kg	4,608	6,732	7,992	9,202	10,088	10,779
Consumo dia ACD = AC/DC	0,056	0,076	0,045	0,043	0,032	0,025
Ganho diário (I) kg = GP/DC	0,058	0,087	0,045	0,038	0,028	0,026
G	3,15	1,94	2,17	1,32	0,74	0,56

3.5.2 - Ensaio de produção com bagre africano (*Clarias gariepinus*)

A Figura 3.10 mostra a relação entre as variáveis peso e comprimento total com o período de criação de 150 dias. Este ensaio iniciou com 27 juvenis, biomassa de 4,880kg, com peso médio corporal de $180,74 \pm 18,80\text{g}$, e $30,70 \pm 1,51\text{ cm}$ de comprimento. A biomassa ao final foi de 12,680kg, com peso corporal médio de $551,30 \pm 88,18\text{g}$, $41,52 \pm 2,71\text{ cm}$ de comprimento total, $G = 0,72\%$ e sobrevivência de 85,52%.

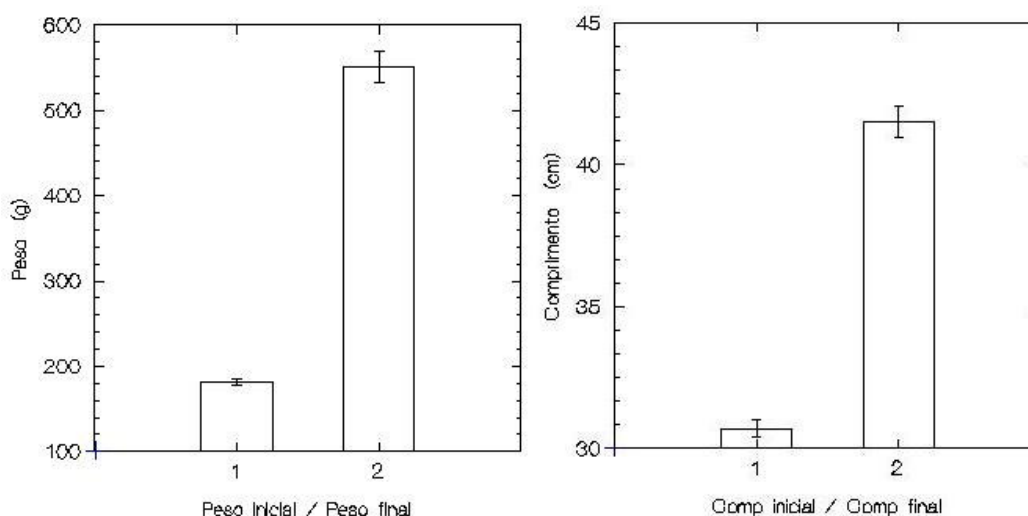


Figura 3.10 – Produção de *Clarias gariepinus* (diferença entre 1 e 2: 150 dias)

3.5.3 - Ensaios de produção com o Piavuçu (*Leporinus sp*):

O primeiro ensaio com duração de 120 dias, iniciou com 115 alevinos, biomassa de 0,162kg, média de $1,40 \pm 0,82\text{g}$ e $4,31 \pm 0,96\text{ cm}$. A biomassa ao final foi de 4,088kg, com peso corporal médio de $56,78 \pm 21,53\text{g}$, $G = 3,09\%$ e sobrevivência de 62,60%,

O segundo ensaio com duração de 30 dias, iniciou com 40 juvenis, biomassa de 2,794kg, peso corporal médio de $71,17 \pm 17,78\text{g}$ e $17,02 \pm 1,16\text{ cm}$ de comprimento total. A biomassa ao final foi de 3,696kg, com peso corporal médio de $108,71 \pm 21,32\text{g}$ e $20,0 \pm 1,39\text{ cm}$. $G = 1,41\%$, sobrevivência de 85,0% e Conversão alimentar de 1,73: 1.

O terceiro ensaio com duração de 30 dias, iniciou com 20 juvenis, biomassa de 2,416kg, peso corporal médio de $120,8 \pm 20,19\text{g}$ e $20,8 \pm 1,28\text{ cm}$. A biomassa ao final foi de 3,312kg com peso corporal médio de $165,6 \pm 26,08\text{g}$ e $22,55 \pm 1,15\text{ cm}$, $G = 1,05\%$, sobrevivência de 100% e conversão alimentar de 1,65: 1. A Figura 3.11 mostra a relação entre as variáveis peso e comprimento com as fases de criação.

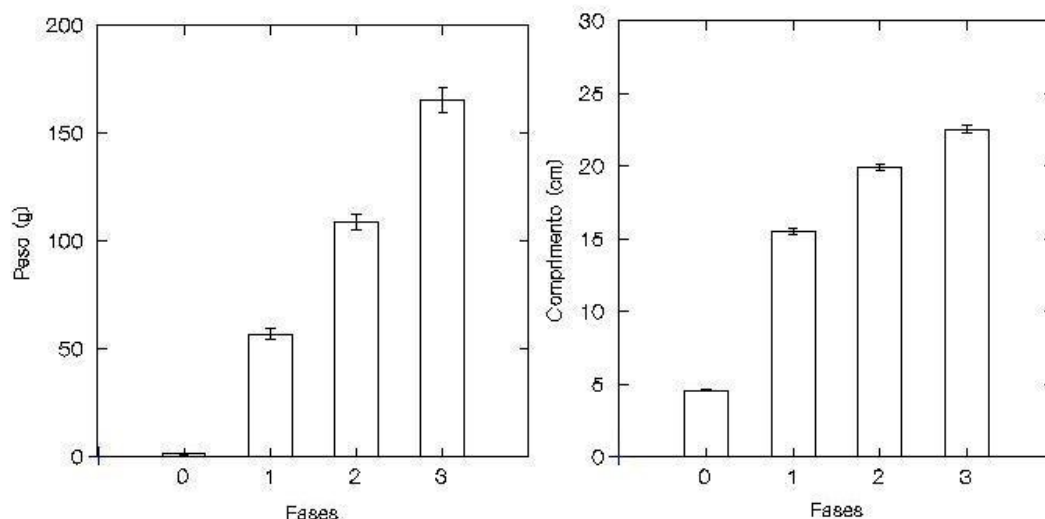


Figura 3.11– Produção de *Leporinus sp* (diferença entre 0 e 1: 120 dias, entre 1 e 2 e entre 2 e 3: 30 dias)

3.5.4 - Ensaio de produção do jundiá (*Rhamdia quelen*)

Este ensaio com duração 30 dias, iniciou com 380 alevinos, biomassa de 0,090kg, peso corporal médio de $0,24 \pm 0,11\text{g}$ e $3,01 \pm 0,42\text{ cm}$. A biomassa ao final foi de 0,584kg, com peso corporal médio de $1,56 \pm 0,68\text{g}$ e $5,09 \pm 0,79\text{ cm}$, $G = 6,24\%$, sobrevivência de 98,68%, conversão alimentar 0,95: 1. A Figura 3.12 mostra a relação entre as variáveis peso e comprimento.

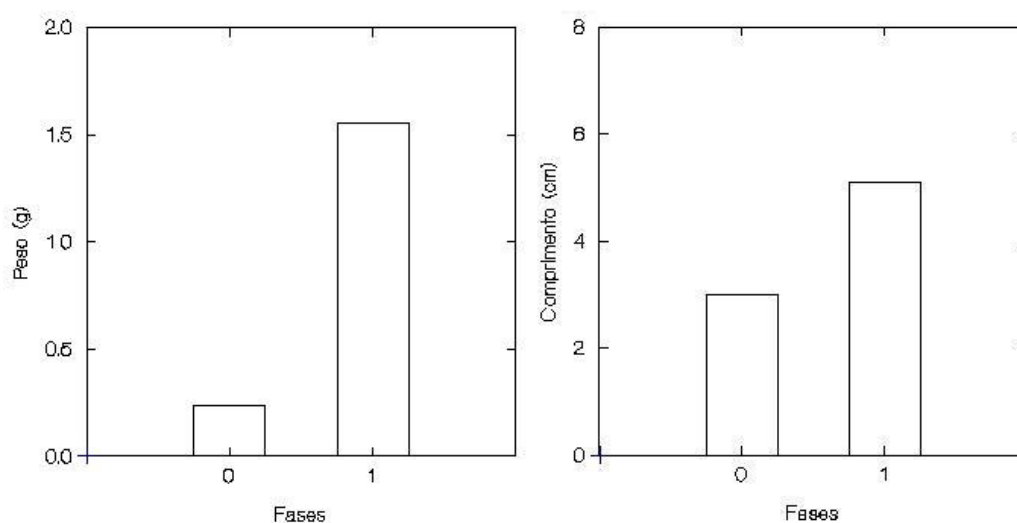


Figura 3.12 - Produção alevinos *R. quelen* (diferença entre 0 e 1: 30 dias)

A Figura 3.13 mostra a variação do desempenho das espécies em relação à Taxa de Crescimento Específico (G) nos diversos ensaios de produção.

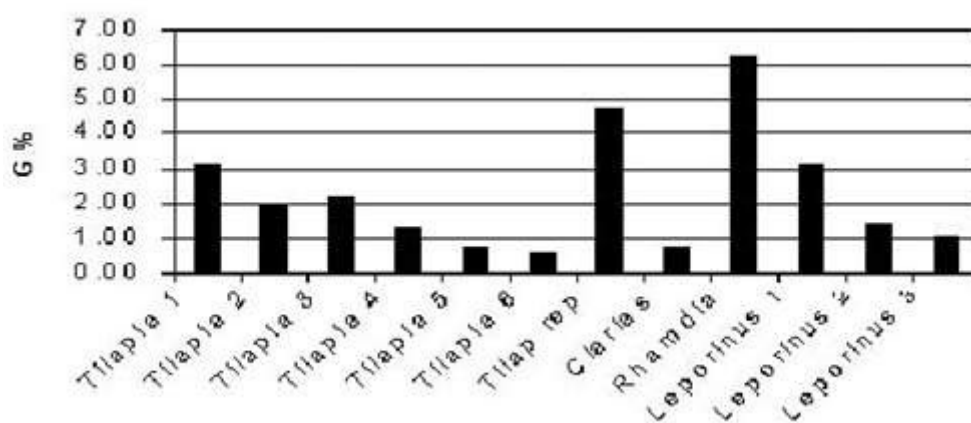


Figura 3.13 – Taxa de Crescimento Específico (G%) para as diversas espécies

A tabela 3.2 resume os resultados para a repetição em tilápia e criação de *Clarias gariepinus*, *Rhamdia quelen* e *Leporinus sp.*

Tabela 3.2– Índices zootécnicos para repetição em *O. niloticus*, criação de *C. gariepinus*, *R. quelen* e *Leporinus sp*

Índices	Ensaio:					
	Tilápia	<i>C. gariepinus</i>	<i>R. quelen</i>	<i>Leporinus sp</i>	<i>Leporinus sp</i>	<i>Leporinus sp</i>
Dias de crescimento (DC)	30	150	30	120	30	30
Média peso início (g)	1,19	180,74	0,24	1,40	71,17	120,80
Média peso final (g)	4,95	551,30	3,01	56,78	108,71	165,60
Densidade (nº. peixes/ m ³)	865	84	1.187	359	125	62
Densidade / tanque	277	27	380	115	40	20
Taxa sobrevivência (%)	97,83	85,52	98,68	62,60	85,00	100,00
Biomassa inicial (BI) kg	0,324	4,880	0,0903	0,162	2,794	2,416
Biomassa final (BF) kg	1,342	12,680	0,584	4,088	3,696	3,312
Ganho de peso GP=(BF-BI)	1,018	7,800	493,66	3,920	0,902	0,896
Produção acumulada	-	-	-	3920	4,822	5,718
Conv. alimentar (CA = AC/GP)	0,57	-	0,95	-	1,73	1,65
G	4,75	0,72	6,24	3,09	1,41	1,05

O sistema mostrou-se completamente adequado quanto às exigências propostas pelos autores Helfrich e Libey (2002), sendo eficiente na exclusão da matéria orgânica por sedimentação e filtragem. Com início da alimentação observou-se um aumento na produção de TAN e redução na quantidade de OD (McGEE; CICHRA, 2002, RIJN, 1996, PRHAL; SANCHES, 1989, COLT; TCHOBANOCLOUS, 1978, 1976, JERIS; OWENS, 1975). O início da mortalidade no primeiro ensaio com *O. niloticus*, foi considerado o limite para TAN. A alimentação não foi interrompida, mas limitou-se o seu fornecimento com o intuito de manter a TAN disponível para formação das colônias de bactérias no reator aeróbio (WICKS et al., 2002, SHARMA; AHLERT, 1977).

As taxas de crescimento específico foram maiores para os períodos em que os peixes apresentaram menor peso (MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999, COLE; BOYD, 1986, HEPHER; PRUGININ, 1985, CHO et al., 1985), coincidindo em todas as espécies e podem ser comparadas na Figura 3.13. As conversões alimentares inferiores a 1,0, indicam que provavelmente parte do material reciclado no reator aeróbio, foi incorporada na alimentação. As tilápias foram mais eficientes no aproveitamento deste material devido ao seu hábito alimentar, que lhes permitem filtrar através do rastro branquial as partículas alimentícias (JAUNCEY; ROSS, 1982).

A criação do bagre africano *C. gariepinus* teve como destaque a obtenção da capacidade máxima de carga e nitrificação no sistema. O sistema foi capaz de sustentar 12,680kg (39,625 kg/m³) de bagre africano ao final de 150 dias. Esta produção em ganho de peso equivale 58,5kg/ m³/ano. Comparando-se com *O. niloticus* que obteve uma produção equivalente a 55,01 kg/m³/ano e carga máxima de 6,022kg, alcançado no segundo ensaio, representa 47,49% da capacidade de sustentação de *C. gariepinus*. Este fato também comprova que a criação escalonada é mais eficiente.

O piavuçu (*Leporinus sp*) apresentou crescimento satisfatório, mas obteve os piores índices de conversão alimentar (1,73: 1 e 1,65: 1) no segundo e terceiro ensaios respectivamente. No primeiro ensaio não se obteve a contagem dos alevinos mortos, uma vez que dois fatores contribuíram para este fato: os alevinos

mortos eram imediatamente devorados, aparecendo no filtro apenas restos de ossos e saltavam para fora da caixa de criação. Devido à ocorrência das perdas não se calculou a conversão alimentar no primeiro ensaio.

O jundiá *R. quelen* foi o peixe que apresentou o menor peso médio individual inicial ($0,24\text{g} \pm 0,11\text{g}$). Os animais dobraram de peso várias vezes e a biomassa final equivale a $18,5 \text{ kg/m}^3/\text{ano}$. Esta fase é conhecida como de aceleração ou de crescimento exponencial conforme Wannigama et al., (1985). Considerando a biomassa final em alevinos de 5 cm e peso médio de 1,56g pode-se verificar que o sistema é viável e capaz de manter ($18,5\text{kg/m}^3/\text{ano}$) ou $18.500 \div 1,56 = 11.860$ alevinos/ m^3/ano , com sobrevivência de 98,68%.

3.6 - Conclusões

O sistema mostrou-se eficiente no controle dos resíduos metabólicos e sobras alimentares, em criação de peixes de diversas espécies, com densidades e idades variáveis. Apresentou praticidade de manejo, facilidade de construção com baixo custo, sendo recomendado para uso em atividades desenvolvidas nos laboratórios de pesquisa, unidades de produção de alevinos e criação familiar.

3.7 - Referências Bibliográficas

BOYD, C.E. Managing water quality in channel catfish ponds. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 37, n. 4, p. 207 - 209. 1982.

BRANCO, S. M. Poluição. Alterações na composição física, química e biológica do meio aquático. In: SANTOS, R. R.; ANJOS, R. V. V. (Eds.) **Poluição e Piscicultura**, p. 37 - 44, 1970.

CARTER, J. C.; NIEVES, M. A. Aquarium fish medicine. **Iowa State University Veterinarian**, v.55, n. 1, p. 10 - 16. Sem data.

CHO, C. Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T. **Finfish Nutrition in Asia Methodological Approaches to Researches and development**. Ottawa: IDRC, 1985. 154p.

COLE, B.A.; BOYD, C. E. Feeding rate, water quality, and channel catfish production in ponds. **Progressive Fish-Culturist**, v. 8, n.2, p. 209 - 224. 1986.

COLT, J.; TCHOBANOGLIOUS, G. Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus* to ammonia effects on growth and survival. **Aquaculture**, v. 15, p. 353 - 372, 1978.

COLT, J.; TCHOBANOGLIOUS, G. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 8, p. 209 - 224, 1976.

EBELING J.; JENSEN, G.; LOSORDO T.; MASSER M.; MCMULLEN, J.; PFEIFFER, L.; RAKOCY, J.; SETTE, M. Model Aquaculture Recirculation System (MARS) **Engineering and Operations Manual**. Iowa: Iowa State University. 1995. 50p. Disponível em: <<http://aquanics.org/publicat/govagen/ncae/part1.pdf>> e <<http://aquanics.org/publicat/govagen/ncae/part2.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2002.

FRANCIS-FLOYD, R.F.; WATSON, C. Ammonia. **UF/IFAS**, Florida: University of Florida, Department of Fisheries and Aquatic Sciences. 1990. 6p. Sciences. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FA031>. Acesso em: 20 fev. 2002.

GROMMEN, R.; VAN HAUTEGHEM, I.; VAN WAMBEKE, M.; VERSTRAETE, W. An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from freshwater aquaria systems. **Aquaculture**, v. 211, p. 115 - 124, 2002.

HARGREAVES, J.A.; KUCUK, S. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. California: **Aquaculture**, v. 195. p.163 - 181, 2001.

HELFRICH, L. A.; LIBEY, G. **Fish farming in recirculating aquaculture systems (RAS)**. Virginia Tech. Department of Fisheries and Wildlife Sciences. 15 p. Disponível em: <http://www.auburn.edu/aunorth/student_resources/module_3/recirculate_aqua_sys.htm>. Acesso em: 07 nov. 2002.

HEPHER, B.; PRUGININ, Y. **Cultivo de peces comerciais**: Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel. Tradução de Canudas, L. F.; Acuña, E. E. México: Granjas San Antonio, 1985. 316 p.

ISLABÃO, N. **Manual de cálculo de rações para animais domésticos**. 4. ed. Porto Alegre: Sagra / Pelotas: Pelotense, 1985. 177p.

JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feeds and feeding**. Scotland: Stirling, 1982. 111p.

JERIS, J.; OWENS, R.W. Pilot-scale, high rate biological denitrification. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 47, p. 2043 - 2057, 1975.

KOILLER, M.; AVTALION, R. R. A laboratory scale recycling water unit for tilapia breeding. **Aquacultural Engineering**, v. 4, p. 235 - 246, 1985.

MARCHIORO, M.I.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 315 - 318, 1999.

McGEE, M.; CICHRA, C. Principles of water recirculation and filtration in aquaculture. **UF/IFAS**, Florida: University of Florida, Department of Fisheries and Aquatic Sciences. 1988. 5p. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FA050>. Acesso em: 29 jan. 2002.

PIOLI, M. S. M. B. **Águas Doces: Bem público de uso comum, com valor econômico exigível como instrumento de controle e gestão**. Disponível em <<http://www.qualidadeonline.com/jornal/centros/dossieragua/aguasdoces.pdf>>. Acesso em 27/02/2005.

PRAHL, H. V.; SANCHEZ, F. Unidad de biofiltracion para el desarrollo larval de *Macrobrachium rosenbergii*. **Boletín Red Acuicultura**, v. 3, n.2, p. 13 - 15, 1989.

RICKER, W.E. Growth rates and models In: MOAR, W.S.; RENDALL, D.J.; BRETT, S.R. **Fish Physiology**, vol. VIII. New York: Academic Press, 1979. p. 677 - 743.

RIJN, J.V. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture – A review. California: **Aquaculture**, v. 139, p.181 - 201, 1996.

SADEK, S.; KALLAFALAH, H.; ADELL, F. Tilapia *Oreochromis niloticus* biomass yield in a commercial farm using circular tanks. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 8, p. 193 - 202, 1992.

SANTOS, I. J.; SOUZA, M. A. A – **Reúso de água: Uma análise da adequabilidade da utilização das águas residuárias tratadas no Distrito Federal**. IN: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Disponível em: <http://www.ciplima.org.pe/sanitaria/xxvii_con/tema01/i-025.pdf>. Acesso em 27/02/2005.

SHARMA, B.; AHLERT, R.C. Nitrification and nitrogen removal. **Water Research**, v. 11, p. 879 - 925, 1977.

SORGELOOS, P.; PERSOONE, G. Three simple culture devices for aquatic invertebrates and fish larvae with continuous recirculation of the medium. **Marine Biology**, v. 15, p. 251 - 254, 1972.

SUANTIKA, G.; DHERT, P.; SWEETMAN, E.; O'BRIEN, E.; SORGELOOS, P. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. **Aquaculture**, v. 227, p. 173 - 189, 2003.

WANNIGAMA, N. D.; WEERAKOON D. E. M.; MUTHUKUMARANA, G. In: CHO, C. Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T. **Finfish Nutrition in Asia Methodological Approaches to Researches and development**. Cage culture of *S. niloticus* in Sri Lanka: Effect of stocking density and dietary crude protein levels on growth. Ottawa: IDRC, 1985. p.113 - 117.

WICKS, B.J.; JOENSEN, R.; TANG, R.; RANDALL, D. J. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: The effect of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 59, p. 55 - 69, 2002.

CAPÍTULO 4 - Presença de cromossomos B em uma população de *Rhamdia quelen* (PISCES, Rhamdiidae) do rio Uberabinha no Município de Uberlândia – MG.

4.1 - Resumo

A família Rhamdiidae apresenta grande variabilidade cariotípica sugerindo que rearranjos cromossômicos como inversões, fusões e fissões foram envolvidas na especiação dentro deste grupo. Nesta família cromossomos B foram observados em quase todas as espécies do gênero *Rhamdia*. Os cromossomos B são definidos como cromossomos supranumerários que não apresentam homólogos e não pareiam com os cromossomos do complemento A. Os cromossomos B parecem ser conservados na maioria do gênero *Rhamdia*, sendo a característica mais importante de sua evolução cariotípica. Conhecer adequadamente este potencial biológico é provavelmente importante para se realizar futuros programas de peixamento e ou criação intensiva da espécie. Dezesete exemplares de *R. quelen* foram capturados no rio Uberabinha no trecho urbano do Município de Uberlândia – MG, no local denominado ponte da Av. Getúlio Vargas, utilizando anzol, molinete com linha plástica 0,30mm e isca viva (minhoca) no horário compreendido das 18:30h as 20:30h. A preparação dos cromossomos mitóticos foi feita com utilização de suspensão celular obtida a partir do rim anterior, rim posterior e sangue periférico. A análise dos cromossomos, após coloração convencional com Giemsa mostrou um número modal de $2n=58$ com variação de zero a sete cromossomos supranumerários que marcados pela técnica da banda C mostraram-se totalmente e alguns parcialmente heterocromáticos. A caracterização dos cromossomos com regiões organizadoras de nucléolo, através da impregnação pelo nitrato de Prata evidenciou um sistema de NOR simples, heteromórfica entre os indivíduos, com apenas um par de cromossomos metacêntricos como sendo o portador da mesma.

Palavras Chaves: Citogenética, cromossomo B, cariótipo, *Rhamdia quelen*.

4.2 - Abstract

The family Rhamdiidae presents great karyotypical variability suggesting that chromosomic rearrangements such as inversions, fusions and fissions were evolved in the speciation inside this group. In this family B chromosomes were observed in almost all the species of the *Rhamdia* genera. These extra chromosomes seem to be conserved in most of the genera and are the most important characteristic of its karyotypical evolution. Knowing suitably this biological potential is important to realize future fishment programs and or intensive breeding of the specie. This present paper had as purpose to know biological aspects of a *Rhamdia quelen* population (Pisces, Rhamdiidae) from the Uberabinha river, concerning the cytogenetic characterization due to local adaptations and populational genetic structure. Seventeen samples of *Rhamdia quelen* were captured in the Uberabinha river in the central area of the municipal district of Uberlândia - MG, in a place named Getulio Vargas avenue bridge, using fishhook, moulinet with 0.30mm line and alive bait (earthworm) in a time ranging from 18:30 pm to 20:30 pm. The preparation of mitotic chromosomes were done using cellular suspension obtained from anterior kidney, posterior kidney and peripheral blood. The chromosomes counting after conventional Giemsa staining has shown a modal chromosome number of $2n = 58$ with a variation of zero to seven supernumeraries chromosomes which were stained with the C banding technique and have shown themselves totally heterochromatics. The characterization of chromosomes with nucleolar organizing regions, through out Silver nitrate impregnation evidenced a simple NOR system, heteromorphic and polymorphic among individuals, with only one metacentric chromosome pair carrying it.

Key words: Cytogenetics, chromosome B, karyotypic, *Rhamdia quelen*.

4.3 - Introdução

Os estudos citogenéticos em peixes neotropicais tiveram início na década de 1970. Uma grande diversidade cromossômica foi evidenciada, inclusive com a

presença de cromossomos B (MAISTRO, 1996). Os cromossomos B são definidos como cromossomos supranumerários que não apresentam homólogos e não pareiam com os cromossomos do complemento A (BEUKEBOOM, 1994). A primeira ocorrência de cromossomos B em peixes neotropicais foi verificada em *Prochilodus lineatus* (citado como *Prochilodus scrofa*) por Pauls e Bertollo (1983).

Néo et al. (2000), estudando populações de *Astyanax scabripinnis* em locais de diferentes altitudes, verificaram alta incidência de cromossomos B representando 51% dos indivíduos da população localizada a 1920m e 21% dos indivíduos da população localizada a 1800m. Nenhum animal oriundo da população localizada a 700m de altitude apresentou cromossomo B. Os autores constataram variação no número, tamanho, forma e frequência entre os sexos.

Na região do Triângulo Mineiro, cromossomos B também foram descritos em *Astyanax eigenmanniorum*, um metacêntrico grande (TORRES-MARIANO, 2001) e em *A. scabripinnis*, um pequeno metacêntrico (ARAÚJO, 2003).

Venere et al. (1999), consideram que a ocorrência muito comum destes elementos cromossômicos pode implicar em origem independente. Os autores descrevem o aparecimento de cromossomo supranumerário em seis espécies de Characiformes neotropicais, pertencentes às famílias Anostomidae, Curimatidae, Prochilodontidae e Crenuchidae.

As famílias Characidae, Parodontidae, Pimelodidae, Callichthyidae, Loricaridae, Cichlidae também apresentam espécies com este tipo de cromossomo e são relacionadas por Salvador e Moreira-Filho (1992).

Os siluriformes representam um grupo de peixes muito diversificados. Esta ordem compreende diversas famílias de peixes neotropicais, com um grande número de espécies (aproximadamente 1.200), muitas das quais com importância econômica. Apresentam número diplóide variando de $2n=46$ a $2n=72$ (OLIVEIRA; GOZTONYI, 2000 apud FENOCCHIO et al., 2003b, FENOCCHIO; BERTOLLO, 1992).

O gênero *Rhamdia*, pertencente ao grupo dos Siluriformes, é extensamente distribuído na América do Sul, onde os cromossomos B foram detectados em

diversas espécies e populações. O número cromossômico entre 33 espécies das famílias Pimelodidae e Rhamdiidae estudadas citogeneticamente varia de $2n=46$ a $2n=63$ (SWARÇA et al. 2000). A grande variabilidade cariotípica nestas duas famílias sugere que rearranjos cromossômicos foram envolvidos na especiação deste grupo.

Fenocchio et al. (2000), analisaram a presença de cromossomos B em *Rhamdia hilarii* e *R. quelen* e concluíram que as duas espécies parecem compartilhar do mesmo tipo deste cromossomo quanto a forma, tamanho, padrão de banda C e comportamento mitótico, em toda uma extensa área de dispersão que varia do Brasil central à cidade de Buenos Aires na Argentina. Isto sugere uma origem antiga para esses cromossomos B, presumivelmente antes da especiação de um antepassado comum.

Valcarcel et al. (1993), apresentou três diferentes citótipos com dois números cromossômicos ($2n=58$ e $2n=59$) para *Rhamdia sapo*. Além das características cariotípicas, verificou-se a ocorrência de dois cromossomos B nesta espécie, um foi classificado como acrocêntrico e o outro metacêntrico. Ambos eram heterocromáticos, não apresentavam pares correspondentes e estavam presentes nos machos e nas fêmeas.

Seis espécies de três gêneros de Rhamdiinae foram estudadas por Fenocchio et al. (2003a). As populações de *R. hilarii* e *R. quelen*, apresentaram um cariótipo básico composto por $2n=58$ cromossomos (26 M, 16 SM, 8 ST e 8 A). Em alguns casos, os autores relatam que pode ocorrer variação nesta fórmula cariotípica, provavelmente por diferenças na condensação cromossômica.

Duas populações distintas de *R. quelen*, uma do rio Taquarussu – SP e outra do córrego Maringá – PR mostraram de um a quatro cromossomos B metacêntricos, mas os citótipos com $2n=58$ apresentaram pequenas diferenças quanto aos tipos de cromossomos ($26M + 20SM + 6ST + 6A$ e $26M + 22SM + 6ST + 4A$) (STIVARI; MARTINS-SANTOS, 2004).

A análise citogenética abordando os cromossomos mitóticos, padrão de bandas C e os cromossomos supranumerários podem auxiliar na compreensão do processo evolutivo da espécie. Este estudo descreve características

cariotípicas da espécie *R. quelen* presente no trecho urbanizado do rio Uberabinha em Uberlândia – MG, com ênfase à confirmação da presença de cromossomos B nesta população.

4.4 - Material e Métodos

Dezessete exemplares de *R. quelen* foram capturados no rio Uberabinha no trecho urbano do Município de Uberlândia – MG, no local denominado ponte da Av. Getúlio Vargas (Figura 4.1).



Figura 4.1 – Vista do rio Uberabinha no local denominado Ponte da Av. Getúlio Vargas

Na captura dos exemplares, utilizou-se anzol número 11 ou 12, molinete equipado com linha plástica 0,30mm e isca viva (minhoca) no horário compreendido das 18:30h às 20:30h. A seguir promoveu-se o transporte para as instalações do Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Federal de Uberlândia. A condução dos animais era feita em saco plástico com volume igual a 10 litros. Estes eram preenchidos com 1/3 de água e os 2/3 restantes inflados com oxigênio. No laboratório os animais permaneciam em aquários aerados, com temperatura mantida a 26° C até o início preparação do material para análise.

O cloreto de cobalto (CoCl_2) foi utilizado para indução da multiplicação celular, aplicado na região intraperitoneal dos animais, à razão de 0,2mg/100g de peso vivo, 18 horas antes de sacrificá-los (CUCCHI; BARUFFALDI, 1990).

A benzocaína foi empregada como anestésico nos animais da pesquisa seguindo a técnica proposta por Rothbard (1981). Antes de sacrificar os animais para retirada dos rins anterior e posterior promoveu-se a coleta do sangue periférico seguindo a técnica proposta por Fenocchio e Bertollo (1988).

A preparação dos cromossomos mitóticos foi feita com utilização de suspensão celular obtida a partir do rim anterior, posterior e sangue periférico. Os cromossomos mitóticos foram preparados seguindo a técnica descrita por Forestti et al. (1993), com algumas modificações.

Os cromossomos foram medidos utilizando-se a versão 4.3 do software Micromesure (2004) com distribuição gratuita.

Os cromossomos portadores das NORs foram evidenciados através da técnica de impregnação com nitrato de Prata (Ag-NORs) descrita por Howell e Black (1980).

As preparações para observação das heterocromatinas constitutivas (Banda C) foram obtidas seguindo a técnica descrita por Sumner (1972), com pequenas modificações.

4.5 - Resultados

A população de *R. quelen* analisada no presente trabalho apresentou o cariótipo composto por $2n=58$ cromossomos com zero a sete cromossomos B, para machos e fêmeas. A fórmula cariotípica foi $26M + 20SM + 8ST + 4A$ (Figura 4.2a e b).

O tratamento com nitrato de Prata evidenciou a presença de um par metacêntrico portador de Região Organizadora do Nucléolo (NOR).

Os peixes com número cromossômico superior a 58, apresentaram supranumerários total ou parcialmente heterocromáticos quando submetidos à técnica da banda C (Figura 4.3a, b, c e d). Essa técnica evidenciou, na população

de *R. quelen* em estudo, de zero a sete cromossomos supranumerários metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos, de tamanho médio a pequeno comparados com o complemento de cromossomos A. Alguns apresentaram banda heterocromática telomérica ou bitelomérica e outros se mostraram totalmente heterocromáticos. Cinco exemplares não apresentaram resultados.

A Tabela 4.1 mostra a frequência do número cromossômico em células de *R. quelen* do rio Uberabinha.

Tabela 4.1 Frequência do número cromossômico em células metafásicas de *R. quelen* do rio Uberabinha.

Número de cromossomos													
Número Registro	Sexo	57	58	59	60	61	62	63	64	65	Total Células	Moda	
1105	M	4	18	9	15						46	58	
1200	-	1	13	1							15	58	
1206	F		17	2							19	58	
1207	M	2	37		1						40	58	
1208	M	1	13		3						17	58	
1210	F	1	14		48	1	2	3			69	60	
1211	M	2	3	8		61					74	61	
1212	M	2	11	1							14	58	
1213	F	2		12	1						15	59	
1222	F	1	15								16	58	
1249	F						1		2	28	31	65	
1250	F	1	32	6							39	58	
total		17	173	39	68	62	3	3	2	28	395		

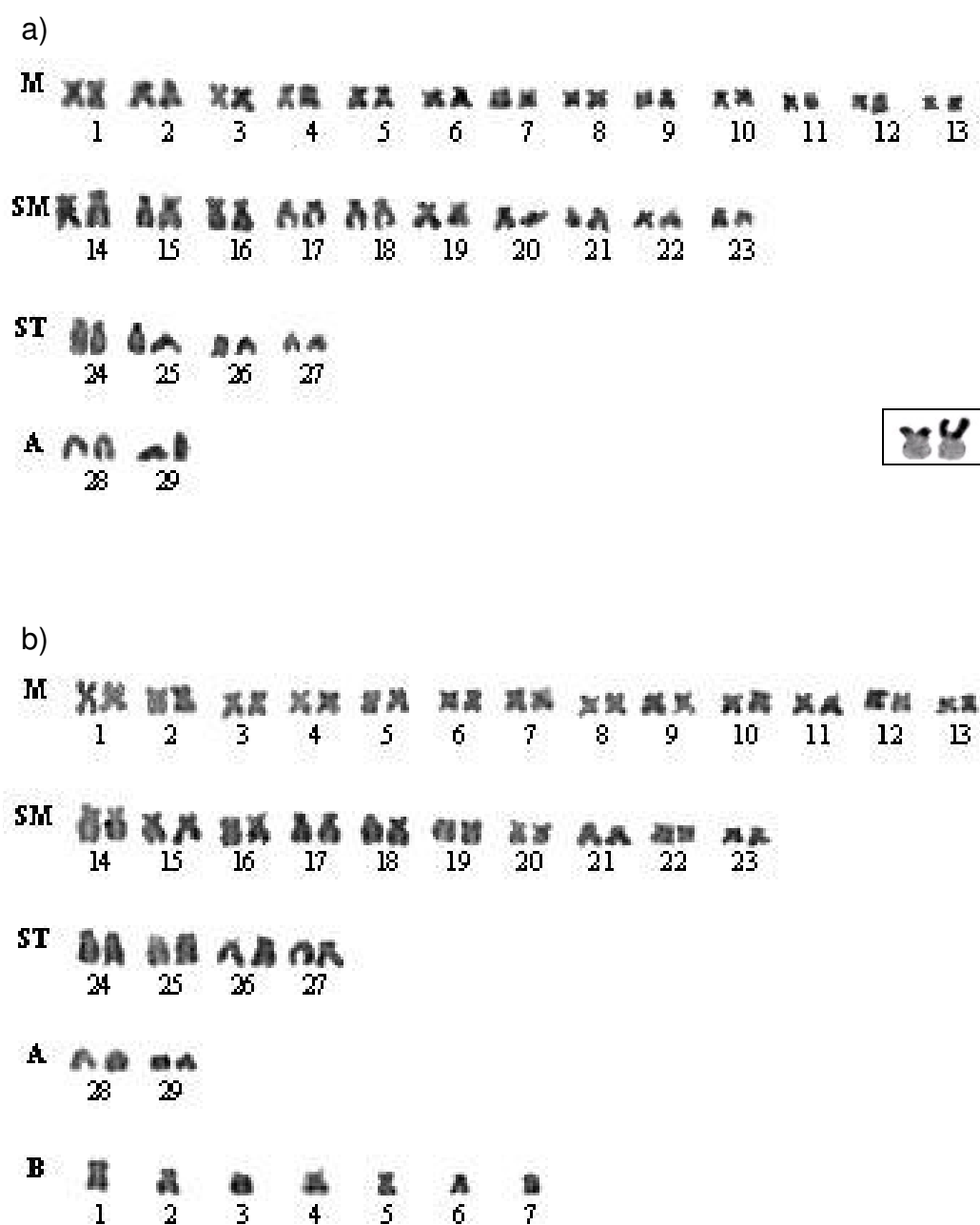


Figura 4.2 - Cariótipos de *Rhamdia quelen*: a) animal com 58 cromossomos, em evidência a Região Organizadora do Nucléolo (Ag-NOR). b) animal com 65 cromossomos. M cromossomos metacêntricos, SM cromossomos submetacêntricos, ST cromossomos subtelocêntricos, A cromossomos acrocêntricos e B cromossomos supranumerários.

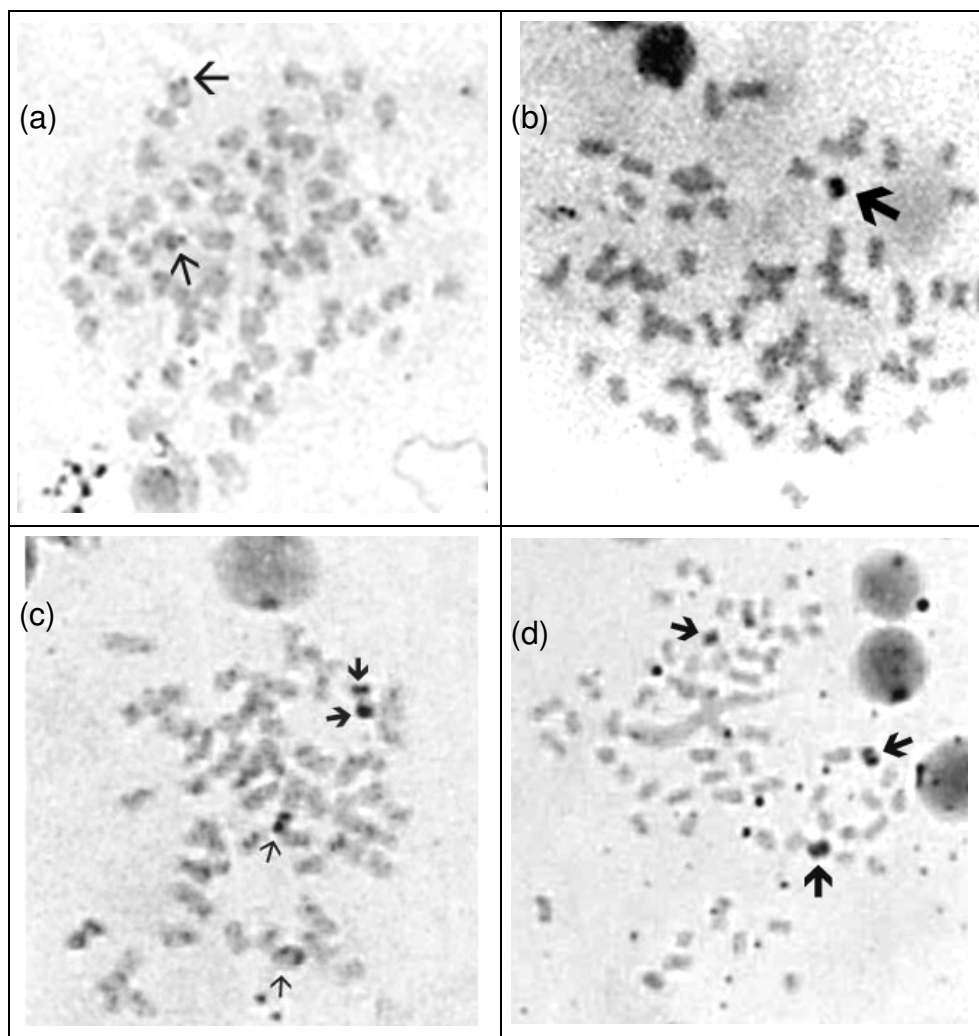


Figura 4.3 - Metáfases de *Rhamdia quelen* submetidas à técnica de banda C: (a) 58 cromossomos, (b) 59 cromossomos, (c) 60 cromossomos, (d) 61 cromossomos. As setas finas apontam os cromossomos portadores da NOR. As setas largas apontam os cromossomos supranumerários.

4.6 - Discussão

A fórmula cariotípica observada para a população de *R. quelen* do rio Uberabinha apresenta pequenas diferenças ao cariótipo (26M, 16SM, 8ST e 8A) proposto por Fenocho et al. (2003a) esta pequena diferença pode ser devido à condensação cromossômica.

Apesar de existir uma variação interindividual no número cromossômico e uma grande variação do número diplóide nos Siluriformes (OLIVEIRA;

GOZTONYI, 2000 apud FENOCCHIO et al., 2003b, MAISTRO et al., 2002, ABUCARMA; MARTINS-SANTOS, 2001, SWARÇA et al., 2000, FENOCCHIO; BERTOLLO, 1990), no gênero *Rhamdia* $2n=58$ é muito freqüente. Fenocchio; Bertollo (1990) estudando uma população de *Rhamdia hilarii* sugerem que o número básico de cromossomos é $2n=58$, com variação numérica até um limite de $2n=63$, devido à presença dos cromossomos B. Stivari e Martins-Santos (2004) relacionam sete espécies do gênero *Rhamdia* provenientes de 25 locais de coletas descritos em 14 trabalhos, em que apenas uma das espécies em um local apresenta $2n=62$ como fórmula diplóide, em todos os demais o número cromossômico é $2n=58$. A freqüência de zero a cinco supranumerários é confirmada também em todas estas populações.

Uma freqüência estável de cromossomos B é encontrada por diversos anos na mesma população. Este fato alertou autores no passado a concluírem que o polimorfismo encontra-se em um estado de equilíbrio e que a freqüência é resultado da ação de duas forças opostas. A acumulação do cromossomo B que tende a aumentar sua freqüência e os efeitos prejudiciais na aptidão dos indivíduos que o carregam tende a diminuí-la (CAMACHO et al. 2000, BEUKEBOOM, 1994, JONES; REES, 1982 apud FENOCCHIO; BERTOLLO, 1990).

A freqüência de citótipos com $2n=58$, 59, 60, 61 e 65 cromossomos com até sete supranumerários evidenciados pela técnica de banda C, na população de *R. quelen* do rio Uberabinha, pode sugerir algum mecanismo para sua manutenção. O padrão de banda C encontrado nestes cromossomos foi semelhante ao descrito por Stivari e Martins-Santos (2004). Entretanto, Camacho et al. (2000), supõem que o polimorfismo do cromossomo B pode ser melhor interpretado através de um sistema dinâmico em que sua freqüência varia continuamente em relação ao complemento A.

Os cromossomos do complemento A mostraram-se frente à técnica de banda C vários segmentos heterocromáticos, com pequenas marcações centroméricas ou teloméricas em alguns cromossomos.

Hochberg e Erdtmann (1988) (apud STIVARI; MARTINS-SANTOS, 2004), citam que os cromossomos B em *R. quelen* podem ter sido originados durante o processo de formação de isocromossomos sugerindo a mesma origem e ancestral comum.

A Região Organizadora de Nucléolo (NOR) foi evidenciada pelo nitrato de Prata no primeiro par de cromossomos metacêntricos, determinando um sistema de NOR simples, ou seja, com apenas um par de cromossomos portador da mesma. Essa se localiza em sua região terminal, apresentando polimorfismo de tamanho, com braço menor de um dos cromossomos totalmente impregnado pelo nitrato de Prata, na maioria dos indivíduos analisados (Figura 4.2).

O sistema de NOR simples também aparece nas diversas populações de *Rhamdia* estudadas (FENOCCHIO et al., 2003, SWARÇA et al., 2003, MAISTRO et al. 2002, ABUCARMA; MARTINS-SANTOS, 2001, MAISTRO, 1996, FENOCCHIO; BERTOLLO, 1990) com exceção de *Rhamdia branneri* e *Rhamdia* sp que mostraram um sistema de NOR múltiplo sendo considerado um caráter apomórfico no gênero (ABUCARMA; MARTINS-SANTOS, 2001).

Na população de *Rhamdia quelen* do rio Taquarussu – SP a NOR foi localizada na posição terminal do braço menor de um par subtelocêntrico enquanto que nos espécimens coletados no córrego Maringá – PR aparece em um par submetacêntrico (STIVARI et al., 2004).

A população estudada no presente trabalho apresenta alguma similaridade com outras descritas anteriormente (FENOCCHIO et al., 2003, MAISTRO et al. 2002, ABUCARMA; MARTINS-SANTOS, 2001, MAISTRO, 1996, FENOCCHIO; BERTOLLO, 1990, STIVARI; MARTINS-SANTOS, 2004). Em relação às Ag-NORs (simples) confirmou-se sua conservação na espécie. Quanto à presença, forma e tamanho dos supranumerários se assemelham à população descrita por Stivari e Martins-Santos (2004), porém, em maior número (zero a sete).

4.7 - Conclusões

O cariótipo para a população de *Rhamdia quelen* do rio Uberabinha é constituído de $2n=58$ cromossomos sendo 26 metacêntricos, 20 submetacêntricos, 8 subtelocêntricos e 4 acrocêntricos.

Nesta população ocorre uma variabilidade interindividual de até sete cromossomos B metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos. Alguns apresentaram regiões heterocromáticas teloméricas ou biteloméricas e outros se mostraram totalmente heterocromáticos.

A Região Organizadora do Nucléolo (NOR) é simples, heteromórfica entre os indivíduos, está presente em um par de cromossomos metacêntricos.

4.8 - Referências Bibliográficas

ABUCARMA, M.; MARTINS-SANTOS, C. Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* species (Pisces, Pimelodidae) endemic in the River Iguaçu basin. **Cytologia**, v. 66, p. 299 - 306, 2001.

ARAÚJO, A. C. S. **Comparações citogenéticas de quatro populações de *Astyanax scabripinis* (PISCES, CHARACIDAE) da região do Triângulo Mineiro**. 2003. 67f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

BEUKEBOOM, L. W. Bewildering B: an impression of the 1st B-Chromosome conference. **Heredity**, v. 73, p. 328 - 336, 1994.

CAMACHO, J. P.; SHARBEL, T. F.; BEUKEBOOM, L.W. B-chromosome evolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Série B**, v. 355, p. 163 - 178, 2000.

CUCCHI, C.; BARUFFALDI, A. A new method for karyological studies in teleost fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 37, p. 71 - 75, 1990.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; CAMACHO, P. M. B chromosomes in two fish species, genus *Rhamdia* (Siluriformes, Pimelodidae). **Folia Biologica**, Krakow, v. 48, n. 34, p. 105 - 109, 2000.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; DIAS, A. L.; SWARÇA, A. C. Cytogenetic studies and correlate considerations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v. 68, n. 4, p. 363 - 368, 2003a.

FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; RONCATI, H. A.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. A cytogenetic survey of the fish fauna from Argentina. **Caryologia**, v. 56, n. 2, p. 197 - 204, 2003b.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C. A simple method for fresh-water fish lymphocyte culture. **Revista Brasileira de Genética (Brazilian Journal of Genetics)**, v. 11, n. 4, p. 847 - 852, 1988.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C. Karyotype similarities among Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from Brazilian Amazon region. **Cytobios**, v. 69, p. 41 - 46, 1992.

FENOCCHIO, A.S.; BERTOLLO, L.A.C. Supernumerary chromosomes in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae). **Genetica**, v.81, p.193 - 198, 1990.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. **Experientia**, v. 49, p.810 - 813, 1993.

HOWELL, W.M.; BLACK, D.A. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, p.1014 - 1015, 1980.

MAISTRO, E. L. **Caracterização morfológica e estrutural de cromossomos supranumerários em peixes**. 1996. 152f. Tese (Doutorado em Genética). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Cytogenetic analysis of A - and B – chromosomes of *Rhamdia hilarii* (Teleostei, Pimelodidae): C-Banding, Silver Nitrate and CMA3 staining and restriction endonuclease banding. **Cytologia**, v.67, p. 25 - 31, 2002.

MICROMEASURE 3.3 Software. Colorado State University USA. disponível em: <http://www.colostate.edu/Dpts/Biology/MicroMeasure>. Acesso em 16 nov. 2004.

NÉO, M. D.; BERTOLLO, L. A. C.; FILHO, O. M. Morphological differentiation and possible origin of B chromosomes in natural Brazilian population of *Astyanax scabripinnis* (PISCES, CHARACIDAE). **Genetica**, v. 108, p. 211 - 215, 2000.

PAULS, E.; BERTOLLO, L. A. C. Evidence for a system of supernumerary chromosomes in *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). **Caryologia**, v. 36, n. 4, p. 307 - 314, 1983.

ROTHBARD, S. Induced reproduction in cultivated cyprinids – The common carp and the group of chinese carps. I. The technique of induction, spawning and hatching. **Bamidgeh**, v. 33, n. 4, p. 103 - 121, 1981.

SALVADOR, L. B.; MOREIRA-FILHO, O. M. B chromosomes in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). **Heredity**, v. 69, p. 50 - 56, 1992.

STIVARI, M. K.; MARTINS-SANTOS, I. C. Karyotype diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). **Cytologia**, v. 69, n. 1, p. 25 - 34, 2004.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 74, p. 304 - 306, 1972.

SWARÇA, A. C.; CAETANO, L. G.; DIAS, A. L. Cytogenetic of species of the families Pimelodidae and Rhamdiidae (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 3, p. 589 - 593, 2000.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; DIAS, A. L. Analysis of heterochromatin by combination of C-banding and CMA₃ and DAPI staining in two fish species (Pimelodidae, Siluriformes). **Genética**, v. 119, p. 87 - 92, 2003.

TORRES-MARIANO, A. R. **Descrição citogenética de três espécies do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae) da bacia do rio Araguari – Uberlândia (MG).** 2001. 61f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

VALCARCEL, A.; BRUNNER, P.; MAGGESE, M. C. B-chromosome polymorphism in the South American catfish, *Rhamdia sapo*. **Aquaculture**, v. 110, p. 111 - 118, 1993.

VENERE, P. C.; MIYAZAWA, C. S.; JUNIOR, P. M. G. New cases of supernumerary chromosomes in characiform fishes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 3, p. 345 - 349, 1999.

ANEXO I

Metodologias usadas nos estudos citogenéticos

Indução de Mitoses

Cloreto de Cobalto

A técnica utilizada foi descrita por Cucchi & Baruffaldi (1990).

1. Injetar, intra-peritonealmente, solução aquosa de CoCl_2 (4mg/ml na proporção de 0,5 por 100g de peso do animal) durante 24 horas, após o qual se processa o material para preparação de cromossomos mitóticos.

Obtenção de cromossomos mitóticos

Tratamento in vitro

Técnica descrita por Foresti et al. (1993), com algumas modificações.

1. Colocar rim cefálico (ou porções em regeneração de brânquias ou nadadeiras) em 6ml de solução salina de Hanks em uma placa de Petri em temperatura ambiente;
2. Dissociar bem o material;
3. Retirar o sobrenadante com um pipeta Pauster, colocando o material em tubo de centrífuga;
4. Pingar uma gota de colchicina 0,016%;
5. Pipetar mais ou menos 50 vezes;
6. Levar o material à estufa (36 °C) por 15 minutos;
7. Centrifugar por 7 minutos a 500 rpm;
8. Desprezar o sobrenadante e completar para 6ml de cloreto de Potássio (KCl);
9. Suspender novamente pipetando por mais 100 vezes;
10. Levar novamente à estufa a 36 °C por mais 30 minutos;
11. Pingar 6 gotas de metanol-acético proporção 3:1;

12. Pipetar devagar por mais 100 vezes;
13. Deixar o material descansar por 5 minutos;
14. Dobrar o volume com fixador e pipetar por mais 100 vezes;
15. Centrifugar por 10 minutos;
16. Desprezar o sobrenadante e completar para 6ml com o fixador, pipetando por 100 vezes;
17. Centrifugar por 7 minutos, repetindo essa lavagem por duas vezes;
18. Diluir o material de forma a se obter uma suspensão não muito turva;
19. Pingar o material nas lâminas que deverão estar previamente aquecidas em banho-maria a 60 °C;
20. Corar por 10 minutos com Giemsa 1/20 em tampão fosfato pH 6,8.

Preparações diretas

Técnica de Bertollo et al.(1978), com pequenas mudanças:

1. Injetar, intra-peritonealmente, colchicina a 0,025%, na proporção de 1ml/100g de peso do animal;
2. Deixar o peixe em um aquário bem aerado, por aproximadamente uma hora, sacrificando-o a seguir e retirando os órgãos desejados;
3. Lavar rapidamente um fragmento do órgão retirado (rim cefálico) em solução hipotônica de KCl 0,075M;
4. Transferir o material para uma pequena cuba de vidro, contendo 8 a 10ml de solução hipotônica de KCl a 0,075M;
5. Fragmentar bem o material, com auxílio de pinças de dissecação, completando-se este processo com uma seringa hipodérmica, desprovida de agulha, através de leves movimentos de aspiração e expiração do material, facilitando-se a separação das células, até se obter uma suspensão celular homogênea;
6. Colocar a suspensão obtida a 36-37 °C, durante 20 minutos;
7. Suspende novamente o material com bastante cuidado, com auxílio de uma pipeta Pasteur, e transferir a suspensão obtida para um tubo de centrífuga;
8. Acrescentar algumas gotas de fixador recém preparado (álcool metílico: ácido acético - 3:1);

9. Suspende novamente o material e centrifugar por 10 minutos, a 900 rpm;
10. Descartar o sobrenadante com pipeta Pasteur;
11. Adicionar, vagarosamente de 5 a 7ml de fixador recém preparado, deixando escorrer através das paredes do tubo;
12. Suspende novamente o material, cuidadosamente, com auxílio da pipeta Pasteur;
13. Repetir os itens 8 a 10 por duas vezes. Após a última centrifugação e eliminação do sobrenadante, adicionar 1ml de fixador e suspender novamente o material. Este poderá então ser guardado em geladeira, acondicionado em pequenos frascos tipo "ependorff", ou trabalhado conforme os passos seguintes;
14. Pingar de 3 a 4 gotas da suspensão obtida, sobre diferentes regiões de uma lâmina bem limpa e seca, que deve estar sobre uma placa aquecida, a 38 - 39°C;
15. Deixar secar ao ar;
16. Corar com solução de Giemsa a 5% em tampão fosfato (pH=6,8), durante 8 minutos;
17. Lavar a lâmina com água destilada e deixar secar ao ar.

Bandamentos Cromossômicos

Deteção das Regiões Organizadoras de Nucléolos (NORs)

Técnica descrita por Howell; Black (1980):

1. Pingar sobre a lâmina, preparada conforme a técnica adotada para cromossomos mitóticos, 1 gota (25µl) de solução aquosa de gelatina a 2% (acrescida de ácido fórmico na proporção de 1ml para cada 100ml de solução);
2. Adicionar sobre a gota (25µl) anterior, 2 gotas (50µl) de solução aquosa de nitrato de Prata a 50% e 1 gota de água deionizada (25µl). Misturar bem e cobrir com lamínula;

3. Incubar em estufa a 60°C, por um período de aproximadamente 5 minutos, dependendo de um monitoramento de coloração da lâmina e dos cromossomos ao microscópio;
4. Após o tempo apropriado, quando os cromossomos assumem uma tonalidade amarelada e as NORs e os nucléolos uma coloração preta ou marrom, lavar em água deionizada, possibilitando que a lamínula seja retirada naturalmente pela própria água.

Deteção da Heterocromatina Constitutiva – Banda C

Técnica descrita por Sumner (1972), com algumas modificações:

1. Tratar a lâmina contendo os cromossomos mitóticos com uma solução de HCl 0,2N, à temperatura ambiente, durante 15 minutos;
2. Lavar em água deionizada e secar ao ar;
3. Submergir as lâminas numa cuba com 2xSSC por 15 minutos, a 37°C;
4. Lavar e secar ao ar;
5. Submergir as lâminas em uma cuba com hidróxido de Bário a 5% por 40 a 60 segundos, a 42°C;
6. Lavar em solução de HCl 0,2N e em seguida em água deionizada e secar ao ar;
7. Incubar as lâminas numa solução salina de 2xSSC, aquecida por 30 minutos a 60°C; lavar em água deionizada e secar ao ar;
8. Corar com Giemsa a 5%, em tampão fosfato pH 6,8 durante 20 a 30 minutos;
9. Lavar em água deionizada e secar ao ar.