



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA
DIVISÃO DE AGRICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUACULTURA

MONOGRAFIA CIENTÍFICA

Adaptabilidade de Alevinos de Tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) Submetida
a Concentrações Crescentes de Salinidade.

Autora: Vilma Marjó Mucoque Chivale

Tutor: Miguel H. Chele, MSc

Lionde, Abril de 2024



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

Monografia científica de investigação sobre Adaptabilidade de Alevinos de Tilápia Moçambicana (*Oreochromis Mossambicus*) submetida a diferentes gradientes de salinidade, a ser apresentada ao Curso de Engenharia de Aquacultura na Divisão de Agricultura do Instituto Superior Politécnico de Gaza, como requisito para a obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia de Aquacultura.

Monografia defendida e Aprovada no dia 08 de Novembro de 2023.

Júri

Supervisor: Miguel Horácio Chele 
(dr. Miguel Horácio Chele, Msc)

Avaliador 1: Madalena J. Capassura
(dr. Madalena João Capassura, Msc)

Avaliador 2: 
(Eng. Orbino Alberto Guambe, Msc)

Lionde, Abril de 2024

INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
DEDICATÓRIA	ix
AGRADECIMENTOS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Problema e Justificativa de Estudo	2
1.2 Objectivos	3
1.2.1 Objective geral:	3
1.2.2 Objectivos específicos:	3
1.3 Hipoteses	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Tilápia	4
2.2 Morfologia e função das brânquias	6
2.2.1 Alterações histológicas em Brânquias	8
2.3 Parâmetros físicos e químicos de qualidade de água	9
2.3.1 Temperatura	9
2.3.2 Oxigénio dissolvido	9
2.3.3 Potencial de Hidrogénio (pH)	10
2.4 Salinidade em peixes	10
2.5 Adaptação das tilápias a salinidade	11
2.6 Alterações comportamentais em peixes	11
2.6.1 Abate em piscicultura	12
2.6.2 Abate por hipotermia	12
2.7 Análises histológicas	12
2.7.1 Técnica histológica	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Localização da área de estudo	16
3.2 Delineamento Experimental	16
3.3 TRATAMENTOS	17

3.4	Procedimentos	17
3.4.1	Obtenção do meio de cultivo	17
3.5	Parâmetros avaliados.....	19
3.5.1	Monitoramento dos parâmetros de qualidade de água.....	19
3.5.2	Descrição das alterações comportamentais.....	20
3.5.3	Determinação da taxa de sobrevivência.....	20
3.6	Avaliação das alterações histológicas	20
3.7	Colecta e conservação das amostras.....	21
3.8	Procedimentos da técnica histológica	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1	Parâmetros de qualidade de água	26
4.1.1	Temperatura	26
4.1.2	Oxigénio.....	27
4.1.3	pH.....	27
4.2	Descrição das alterações comportamentais	27
4.3	Alterações histológicas em alevinos de tilápia moçambicana submetidos a diferentes aclimações a 30‰ de salinidade	29
4.4	Taxa de sobrevivência de alevinos de tilápia de Moçambique submetidos a salinidade 31	
4.4.1	Taxa de sobrevivência segundo a estatística.....	32
5	CONCLUSÃO.....	34
6	RECOMENDAÇÕES.....	35
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
8	ANEXOS.....	38

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação Taxonómica.....	5
Tabela 2: Layout dos tratamentos	17
Tabela 3: Materiais usados na obtenção do meio de cultivo.	17
Tabela 4: Aumentos nos níveis de salinidade durante o experimento.	19
Tabela 5: Avaliação das alterações histológicas.	21
Tabela 6: Colecta e conservação das amostras.....	21
Tabela 7: Valores médios dos parâmetros de qualidade de água mensurados durante o experimento.	26
Tabela 8: Descrição das alterações comportamentais.	28
Tabela 9: Alterações histológicas em alevinos de tilápia moçambicana submetidos a aclimação a diferentes gradientes de salinidade.....	29
Tabela 10: Taxa de sobrevivência durante a aclimação	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tilápia Moçambicana	5
Figura 2: Estrutura básica da brânquia da Tilápia	7
Figura 3: A Microfotografia de um corte histológico longitudinal de brânquia da tilápia de Moçambique (coloração com hematoxilina e eosina).	8
Figura 4: Mapa de localização da área de estudo	16
Figura 5: Aclimação a salinidade	18
Figura 6: Multi-Parâmetro, oxímetro, o refratômetro portátil (A); Medição do nível de salinidade (B) ..	19
Figura 7: Colecta de amostras (A); Idetificação de amostras (B); Conservação de amostras (C).	22
Figura 8: Desidratação a 70% (A); Desidratação a 80% (B); Desidratação a 96% (C); Desidratação em álcool absoluto (D).	23
Figura 9: Processo de Diafanização em xilol	23
Figura 10: Impregnação do material biológico em parafina.....	23
Figura 11: Inclusão do material biológico.	24
Figura 12: Coloração em hematoxilina e eosina.	24
Figura 13: Montagem lamelas	25
Figura 14: lâminas para observação.....	25
Figura 15: Alterações comportamentais nos diferentes tratamentos.	28
Figura 16: Estrutura branquial da tilápia moçambicana, exposta a 30‰ de salinidade (A), Apresentando hiperplasia lamelar, seta (fusão lamelar), bolinhas (necrose). Em (B) estrutura branquial da tilápia moçambicana, aclimatada a 30‰ com aumentos de salinidade a 5‰ seta (fusão lamelar). (Colorção hematoxilina e eosina, objectiva 40x).	30
Figura 17: Taxa de sobrevivência de alevinos de tilápia moçambicana submetidos a salinidade.	31
Figura 18: Taxa de sobrevivência submetida a análise de variância.	Error! Bookmark not defined.

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equacao 1: Equação de diluição	18
Equacao 2: Determinação da taxa de sobrevivência	20

LISTA DE ABREVIATURAS

Sigla	Designação
%	Percentagem
°C	Graus Celsos
↑	Aumento
‰	Partes por milhão
ATPase	Adenosinatrifosfatase
CEPAQ	Centro de Pesquisa em Aquacultura
DCC	Delineamento Completamente Casualizado
FAVET	Faculdade de Veterinária
H ₂ S	Sulfureto de Hidrogénio
K ⁺	Ião potássio
KG	Quilograma
m ²	Metros quadrado
m ³	Metros cúbicos
mg/l	Miligramas por litro
mm	Milimetro
mOsm	Milosmol
Na	Sódio
Na ⁺⁺	Ião de sódio
NH ₄	Amoníaco
Ph	Potencial de hidroénio
T0	tratamento controle
T1	Tratamento 1
T2	Tratamento 2
T3	Tratamento 3
T4	Tratamento 4
UEM	Universidade Eduardo Mondlane



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

DECLARAÇÃO

Declaro por minha honra que esta Monografia de Culminação do Curso é resultado da minha investigação pessoal e das orientações do meu tutor, o seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas no texto, nas notas e na bibliografia final. Declaro ainda que este trabalho não foi apresentado em nenhuma outra instituição para propósito semelhante ou obtenção de qualquer grau académico.

Lionde, Abril de 2024

Vilma Marjó Mucoque Chivale

(Vilma Marjó Mucoque Chivale)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente a minha família pela orientação do ensino, aprendizado e compreensão das coisas da vida.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar venho agradecendo a Deus pelo dom da vida, por sua providência, por ele ser o meu fiel ajudador, Ebenezer. Pois sem ele esta jornada não teria tido e início, quanto menos sucesso e fim.

Agradeço ao Centro de Pesquisa Em Aquacultura (CEPAQ) e ao Laboratório da Faculdade de Veterinária da Universidade Eduardo Mondlane, pela cooperação científica com o Instituto Superior Politécnico de Gaza tornando possível a realização de estudos como este, para a culminação do curso e amadurecimento científico dos estudantes, rumo ao desenvolvimento da ciência no País. Aos meus tutores, MSc. Miguel H. Chele, José M. Vilanculos e Cláudio Laisse pelo apoio e supervisão, também ao Professor doutor Manecas Balói os meus profundos e sinceros agradecimentos.

A minha família pelo apoio e suporte, aos meus colegas e amigos que ajudaram-me: Clinton Meque, Sheld Cumbi, Simião Celeste e William Jossua.

E para os meus amigos, em especial Celeste Massingue, Euclésia Muianga, Fernando Pedro, Helton da Costa e Yura Cuco que estenderam-me sempre a mão, gratidão, á pequena Melisa Matimele e Rosyane Nadiro.

Agradecendo por fim, a todos aqueles que o momento não me permite lembrar, mas que participaram de alguma forma ao longo do caminho percorrido.

RESUMO

A maioria das espécies de Tilápia são capazes de tolerar uma ampla variedade de salinidade, possuindo habilidades para sobreviver em águas estuarinas ou mesmo em água do mar. O presente estudo, é um experimento que foi realizado no Centro de Pesquisa em Aquacultura com o objetivo de avaliar a aclimatação de alevinos de Tilápia moçambicana (*Oreochromis mossambicus*) a salinidade. O experimento foi assente em um delineamento completamente casualizado, com cinco tratamentos (0‰, ↑ 5-30‰, ↑ 10-30‰, ↑ 15-30‰, 0 - ↑ 30‰) e três repetições, onde os alevinos com peso de 5g foram aclimatados em bacias plásticas com aeração constante e com aumentos dos gradientes de salinidade a cada 48 horas. Verificou-se que todos os parâmetros de qualidade de água monitorados estiveram dentro dos níveis normais para o cultivo, a taxa de sobrevivência manteve-se aos 100% apenas nos tratamentos controle 0‰ e aumentos dos gradientes de salinidades a 5‰, no tratamento de transferência directa (0-30‰) a taxa de sobrevivência foi de 0%, tendo sido no experimento o valor de P 0,01321. As alterações comportamentais foram classificadas em nenhum (-), ligeiros (+), moderados (++) e graves (+++) e as alterações histológicas observadas variaram de fusões lamelares, hiperplasia e necroses. Conclusões: a partir dos resultados obtidos pôde-se concluir que esta espécie apresenta um potencial promissor para a sua introdução e cultivo em ambientes de água salgada.

Palavras Chaves: *Oreochromis mossambicus*, água salgada, adaptação.

ABSTRACT

Most Tilapia species are able to tolerate a wide range of salinities, having the ability to survive in estuarine waters or even in seawater. The present study is an experiment that was carried out at the Aquaculture Research Center with the objective of evaluating the acclimatization of Mozambican Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) fry to salinity. The experiment was based on a completely randomized design, with five treatments (0‰, ↑ 5-30‰, ↑ 10-30‰, ↑ 15-30‰, 0 - ↑ 30‰) and three replications, where fry weighing 5g were acclimatized in plastic basins with constant aeration and with increases in salinity gradients every 48 hours. It was found that all monitored water quality parameters were within normal levels for cultivation, the survival rate remained at 100% only in the control and acclimatization treatments at 5‰ off salinity, in the direct transfer treatment (0-30‰) the survival rate was 0%, with the P-value being 0.013321 in the experiment. Behavioral changes were classified as none (-), mild (+), moderate (++) and severe (+++), and the histological changes observed ranged from lamellar fusions, hyperplasia and necrosis. Apart from the results obtained, it was possible to conclude that this species has promising potential for its introduction and cultivation in salt water environment.

Key words: *Oreochromis mossambicus*, salt water, adaptation.

1. INTRODUÇÃO

Adaptação refere-se a maximização da capacidade de tolerância de um organismo a exposições a diversos agentes estressores ambientais. As tilápias são espécies de origem africana, que apresentam preferência a climas tropicais, apresentando melhor desenvolvimento em águas com temperaturas entre 26°C e 30°C, que ocorrem de forma mais estável no final da primavera, verão e início de outono (Kubitza F. , 2005).

Em piscicultura, a tolerância e a rápida adaptação a diferentes gradientes de salinidade variam de espécie para espécie. A possibilidade de introdução e cultivo de espécies de peixe de água doce em ambientes marinhos requer a busca por espécies de peixe que naturalmente adaptam-se a tal ambiente, demonstrando flexibilidade na adaptação e mesmo em níveis de salinidade variáveis (Villega, 2020).

Algumas das espécies de tilápias primitivas habitaram em ambientes marinhos e de um modo característico, o grupo apresenta alta capacidade de tolerância a grandes variações de salinidade. Muitas espécies apresentam alto grau de euralinidade, enquanto outras são limitadas à ambientes de água doce ou de baixa salinidade. As faixas de tolerância destas espécies variam de modo considerável, tendo sido observados limites desiguais para a mesma espécie em diferentes linhagens, não sendo apenas os fatores genéticos que influem na tolerância à salinidade em tilápia (Canónico & et al, 2019).

A tolerância das tilápias à altos gradientes de salinidade, também depende da forma de aclimação, sendo os métodos gradativos mais efetivos (Perschbacher & Mcgeachin, 2021). Hopkins, (2017) citado por (Ostini, 2020) num estudo, observou que um aumento de 5% de salinidade por dia, foi mais efetivo para a adaptação de *Oreochromis spilurus* à salinidade da água do mar. Procedimento idêntico foi utilizado por Watanabe, (1988). para aclimatar a tilápia vermelha da Flórida (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis urolepis hornorum*).

Para tal, durante o desenvolvimento dos trabalhos de campo, foram realizados estudos ligados ao monitoramento dos parâmetros de qualidade de água nas diferentes condições de aclimação a salinidade, determinação da taxa de sobrevivência de alevinos de Tilápia moçambicana nas diferentes condições de aclimação a salinidade, descrição das alterações comportamentais em

alevinos de Tilápia moçambicana submetidos a diferentes condições de aclimação a salinidade e identificação de alterações histológicas em alevinos de Tilápia.

1.1 Problema e Justificativa de Estudo

Segundo (Kubitza F. , 2005), em regiões onde a prática da piscicultura só é possível com fontes de água salobra ou salgada, o cultivo de espécies de peixes com tolerância a vários níveis de salinidade torna-se uma alternativa. Das diversas espécies de Tilápia, a Tilápia de Moçambique é uma das mais tolerantes a altos níveis de salinidade, sendo capaz de crescer e reproduzir-se em águas salobras com salinidades acima de 32‰ (Carneiro, 2018).

O Centro de Pesquisa em Aqualcutura (CEPAQ), no distrito de Chókwè, comercializa alevinos de tilápia moçambicana, porém não dispõe de um protocolo sobre a aclimação e introdução desta espécie em ambientes de água salgada. Tornando-se subjectiva a escolha de linhagens de pesquisa sobre a adaptabilidade de alevinos da tilápia moçambicana como espécie de água doce submetida à salinidade. Tomando em consideração os antecedentes expostos coloca-se a seguinte questão: Como introduzir e adaptar esta espécie de água doce a ambientes de água salgada?

1.2 Objectivos

1.2.1 Objective geral:

- ✓ Avaliar a adaptabilidade de alevinos da Tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) submetidos a concentrações crescentes de salinidade;

1.2.2 Objectivos específicos:

- ✓ Monitorar os parâmetros de qualidade de água nas diferentes condições de aclimação a salinidade;
- ✓ Medir a taxa de sobrevivência de alevinos de Tilápia moçambicana (*Oreochromis mossambicus*) nas diferentes condições de aclimação a salinidade;
- ✓ Descrever as alterações comportamentais em alevinos de Tilápia Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) submetidos a diferentes condições de aclimação a salinidade;
- ✓ Identificar alterações histológicas em alevinos de Tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) submetidos a diferentes condições de aclimação a salinidade;

1.3 Hipoteses

H₀: Não existem diferenças na adaptação de alevinos de tilápia moçambicana submetidos a diferentes aumentos dos gradientes de salinidades.

H_a: Existem diferenças na adaptação de alevinos de tilápia moçambicana submetidos a diferentes aumentos dos gradientes de salinidades.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tilápia

A tilápia é um peixe de água doce, que apresenta tolerância a meios de cultivo de água salobra ou salgada estando geograficamente distribuída em regiões tropicais com temperaturas inferiores a 20 °C, durante o Inverno. Para além da grande tolerância a variações de temperatura, também tolera grandes variações dos níveis de salinidade e sobrevive a ecossistemas com baixos níveis de oxigénio (José, 2019).

Esta espécie é bastante prolífera, causando super produção e desviando grande parte da sua energia que poderia ser utilizada no crescimento para a produção de óvulos, e devido ao cuidado parental das fêmeas incubando os ovos na boca sem se alimentar influenciando na diferença de crescimento entre os machos e fêmeas. Na engorda, são utilizados mais machos do que fêmeas, optando-se pela reversão sexual na fase larval dos peixes (José, 2019).

Este peixe que apresenta em sua estrutura física barbatanas dorsal e anal, e com uma concavidade na mandíbula superior nos machos do que nas fêmeas, sendo que o tamanho dos indivíduos adultos geralmente ronda aos 30-44 cm para os machos e 25-33 cm para as fêmeas sob condições normais (Oliveira, 1995).

Apesar das diversas espécies de tilápia identificadas, principalmente na África tropical todos os cruzamentos de hibridização advieram de quatro espécies mais cultivadas na piscicultura, de entre estas *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis urolepis hornorum* e *Oreochromis mossambicus*, sendo maior parte destas espécies capaz de tolerar ambientes salinos, sendo possível o seu cultivo em águas salobras ou salgadas de acordo com o seu grau de tolerância à salinidade que pode variar conforme sua herança genética (Greiner & Gregg, 2019)

A tilápia de Moçambique apresenta de modo geral preferência a águas rasas e pouco profundas no seu meio natural. Apesar de na fase juvenil obter por migrar para águas profundas se afastando de predadores como a *Clarias gariepinus* e na fase adulta para as águas superficiais em resposta a redução da temperatura das águas no inverno (Huertas & et al, 2018).

Segundo (Kubitza, 2005), *Oreochromis mossambicus* tilápia de Moçambique (Figura 1), é uma das espécies mais tolerantes à salinidade. Sobrevive bem a concentrações de sal de até 35ppt e tolera concentrações próximas de 50ppt quando adaptada gradualmente e consegue-se reproduzir em águas de salinidade próxima a 32ppt, referem que a eficiência reprodutiva desta espécie é cerca de três vezes maior em água com salinidade entre 10 e 15ppt do que em água doce (Kubitza, 2005).



Figura 1: Tilápia Moçambicana

Fonte: Martins, (2011)

Segundo (Skelton, 2001) A espécie *Oreochromis mossambicus* (Tabela 1), ocupa as seguintes categorias de classificação taxonómica:

Tabela 1: Classificação Taxonómica.

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Actinopterygii

Ordem: Perciforme

Família: Cichlidae

Género: *Oreochromis*

(Peters, 1852)

Segundo Oliveira 1995, a espécie *Oreochromis mossambicus* foi descoberta pela primeira vez por Peters em 1852, a partir de amostras colhidas em Moçambique na região inferior do rio Zambeze, sendo que ocorria nas regiões de Tete, Sena, Quelimane, Lumbo, Inhambane e Quirimba, estendendo-se também pelas bacias hidrográficas que incluem, além de Moçambique, a África do Sul, Zimbabwe e Suazilândia.

A espécie *Oreochromis mossambicus* tem sido empregada em diversos programas de melhoramento genético e formação de algumas linhagens de tilápia, particularmente as tilápias de coloração vermelha resultados da hibridação de pelo menos duas espécies, uma das quais é necessariamente a tilápia de Moçambique, a qual confere ao híbrido a coloração avermelhada e a ampla tolerância à variações de salinidade (Kubitza F. , 2005).

Para além do seu cultivo comercial, esta espécie também tem sido utilizada em hibridizações e cruzamentos para a obtenção de alevinos híbridos ou para gerar e estabelecer linhagens com certas características desejáveis num cultivo como o rápido crescimento, obtenção de alevinos com maior percentagem de machos, tolerância a baixas temperaturas, resistência à variações de salinidade, facilidade de captura, maturação precoce e maior eficiência reprodutiva (Kubitza, 2005).

2.2 Morfologia e função das brânquias

A brânquia é um órgão cuja estrutura é extremamente organizada, sendo complexo, tanto a nível morfológico como fisiológico (Ribeiro & et al, 2022). Desempenha diversas funções vitais para os peixes, nomeadamente a respiração, osmorregulação, manutenção do equilíbrio ácido-base, mas também a excreção de compostos azotados. Possui uma superfície de contacto extensa de forma a facilitar as várias funções, estando 90% deste órgão em constante contato direto com o ambiente externo (Monteiro & et al , 2019).

Cada brânquia é composta por quatro estruturas ósseas curvas denominadas de arcos branquiais (Figura 2), e cada um destes confere suporte a duas fileiras de filamentos branquiais de onde se projetam as lamelas transversais.

Na maioria das espécies, os filamentos são projeções longas e estreitas, que afunilam na sua extremidade tendo uma forma hidrodinâmica. Em cada filamento está presente uma artéria aferente que transporta o sangue em todo o comprimento do filamento e uma artéria eferente que transporta

sangue rico em oxigénio, proveniente dos capilares lamelares, graças ao sistema de contracorrente. A forma, tamanho e densidade dos filamentos branquiais e das lamelas varia de acordo com as diferentes espécies de peixes (Ribeiro & et al, 2022).

As lamelas estão distribuídas uniformemente e numa posição perpendicular ao longo dos filamentos (Figura 2). Estão densamente irrigadas por capilares sanguíneos e revestidas por um epitélio fino o que facilita as trocas gasosas (Prain & et al, 2021).

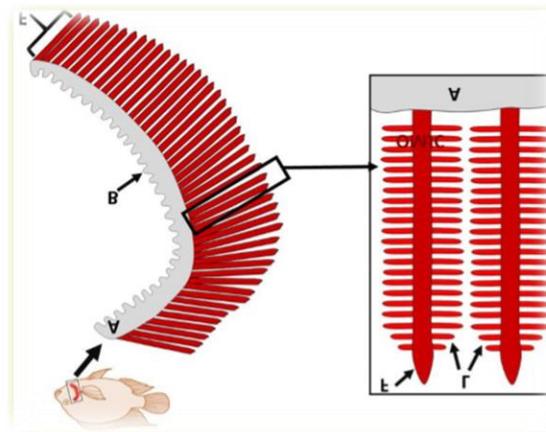


Figura 2: Estrutura básica da brânquia da Tilápia

Fonte: (Ribeiro O. , 2017)

A parte anterior do arco branquial (A) está revestida por branquispinhas (B), e a parte posterior com uma das duas fileiras de filamentos (a outra não foi representada para facilitar a visualização). No interior do retângulo, podemos observar as lamelas (L) distribuídas perpendicularmente ao filamento (F) (Ribeiro O. , 2017)

Os filamentos e as lamelas (Figura 2) são cobertos por um epitélio, que tem como função proteger e separar-los do ambiente externo ao peixe. O epitélio filamentar é sedimentado e pavimentoso, como de células produtoras de muco que de acordo com cada espécie pode possuir possui células que segregam cloreto de sódio (espécies de água salobra e salgada) ou células que captam cloreto de sódio (espécies de água doce). O muco liertado tem a função de proteger o epitélio, principalmente quando exposto a condições não favoráveis da qualidade da água do cultivo. Pode-

se ainda observar a presença de células acessórias, neuroepiteliais ou indiferenciadas (Monteiro & et al, 2020).

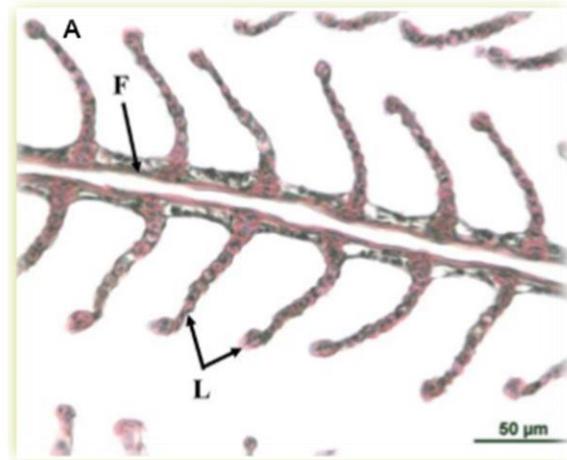


Figura 3: A Microfotografia de um corte histológico longitudinal de brânquia da tilápia de Moçambique (coloração com hematoxilina e eosina).

Pode-se observar um filamento (F) e numerosas lamelas (L) dispostas ao longo da sua extensão. (Ribeiro O. , 2017)

2.2.1 Alterações histológicas em Brânquias

As brânquias são o órgão mais utilizado em estudos de peixes como biomarcadores de mudanças do meio aquático por serem estruturas vitais para a saúde destes animais, pois além de serem o principal local de trocas gasosas, também estão envolvidas nos processos de osmoregulação, equilíbrio ácido-básico, excreção de compostos nitrogenados e desempenham ainda a função de órgão sensorial da gustação (Araújo et al. 1997, 1999, 2000, 2001, Leonardo 1999, Sabóia-Morais et al. 1999, Winkaler et al. 2001, Lopes 2006, Figueiredo-Fernandes et al. 2007, Garcia-Santos et al. 2007, Fontáinhas-Fernandes et al. 2008). Qualquer comprometimento nos filamentos e lamelas branquiais, que interfiram em sua função certamente comprometerá a sobrevivência desses animais, sendo consideradas principais lesões em brânquias fusões lamelares, hiperplasia lamelar, necoses e edema.

2.3 Parâmetros físicos e químicos de qualidade de água

A água é a substância considerada como base da terra compreende a composição química de todos os seres vivos, além de ser o meio onde vivem os peixes. Sendo assim especificamente, as suas características regulam de modo eficaz o metabolismo do ecossistema a variações climáticas e geográficas. Diversos factores podem transformar a composição e disposição da água, interferindo no equilíbrio de crescimento e desenvolvimento de vários ecossistemas (Breves & et al, 2020).

Num âmbito geral, a água (H₂O) abarca vários componentes, os quais advém do ambiente natural ou inseridos de maneira antropogénica. A descrição da água pode ser prestada por diversos parâmetros, os quais representam suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Kubitza F. , 2005). No cultivo de organismos aquáticos a qualidade da água pode determinar o sucesso ou o fracasso de uma operação aquícola sendo fundamental o seu monitoramento de forma a evitar a ocorrência de grandes prejuízos ocasionados por desequilíbrios no meio de cultivo (Breves & et al, 2020).

2.3.1 Temperatura

Oreochromis mossambicus e outros grupos das tilápias toleraram altas temperaturas em ambientes salinos em relação a ambientes de água doce e apresentam melhor desempenho produtivo em ambientes estuarinos do que em ambientes de água doce (Maughan & et al, 2019). O seu conforto térmico encontra-se entre 27 a 32°C. Temperaturas acima de 32°C e abaixo de 27°C reduzem a aderência ao alimento e o crescimento, e abaixo de 18°C o sistema imunológico é enfraquecido. Temperaturas na faixa de oito a 14°C geralmente são letais, de acordo com cada espécie, linhagem e condição corporal dos peixes (Kubitza, 2005).

2.3.2 Oxigénio dissolvido

O oxigénio é fundamental para a vida dos organismos aquáticos, baixos níveis de oxigénio dissolvido no meio aquático pode resultar em baixo crescimento, baixa eficiência alimentar dos, enfraquecimento do sistema imunológico, aumento da incidência de doenças, mortalidade e consequente redução na produtividade dos sistemas aquícolas (Kubitza F. , 2005). A espécie *Oreochromis. mossambicus* pode suportar baixos níveis de oxigénio dissolvido em torno de 0.1mg/L por curtos períodos, apresentando uma respiração de ar facultativa dependendo da temperatura atmosférica podendo sobreviver à exposição completa do ar durante várias horas (Breves & et al, 2020)

2.3.3 Potencial de Hidrogénio (pH)

O potencial de hidrogénio é definido como logaritmo negativo da concentração molar de íons hidrogénio sendo à medida que expressa a acidez e a alcalinidade de uma solução, podendo ser influenciado pela quantidade de íons H⁺ e OH⁻, podendo ser fortemente influenciado por ácidos, sais e bases disponíveis no meio. Os valores de pH variam de 1,0 a 14,0 sendo que abaixo de 5,0 é fatal a maioria dos peixes, entre 5,0 e 6,0 causas queda no desenvolvimento, entre 6,5 a 9,5 permite um desenvolvimento satisfatório, entre 7,0 a 8,5 é a faixa ideal para desenvolvimento dos peixes e, sendo acima de 11 e 0 também letal (Kubitza F. , 2005)

No cultivo de tilápias o pH do meio de cultivo deve ser mantido entre a faixa de 6 a 8,5. Abaixo de 4,5 e acima de 10,5 a mortalidade é significativa. Morte total entre 1 a 3 dias ocorre com tilápias em água com pH 3 e uma mortalidade de 50% (Maughan & et al, 2019)

2.4 Salinidade em peixes

A salinidade é compreendida pela disponibilidade de iões dissolvidos na água (Tucker, 1998). Os peixes que vivem na água do mar dispõem de uma concentração osmótica no sangue rondando entre os 300-350 mOsm/kg que compreende a aproximadamente um terço da concentração osmótica da água do mar que é de 1.000 mOsm/kg, sendo deste modo hiposmóticos em relação ao meio em que vivem. Assim, apresentam dois problemas osmorregulatórios gerais: entrada de sais por difusão e perda de água por osmose (El-zaeem & et al, 2019).

Ambientes de águas salobres constituem uma alternativa para a expansão da piscicultura no âmbito de introdução de espécies de água doce que sejam euralinas, tornando possível o cultivo de tilápias que toleram à salinidade. Para além de a resistência das tilápias à salinidade variar de acordo com a espécie, factores como a estratégia de adaptação, a idade dos peixes no momento da transferência e a prévia exposição de ovos e pós-larvas à água de maior salinidade também parecem afectar a tolerância das tilápias à salinidade. De acordo com (Kubitza, 2005) uma aclimação gradual, com o aumento da salinidade na ordem de 5‰ ao dia, resulta em melhor sobrevivência após a transferência para água salgada do que com a transferência directa. Segundo McCormick (2001), a salinidade pode afetar os processos osmorregulatórios, devido a alterações no número de células de cloreto e ou modulação da atividade da Na⁺, K⁺-ATPase.

A alteração da salinidade para além da concentração corporal das diferentes espécies, pode fazer com que essas percam ou ganhem água ou sais. Para estabilizar esse influxo ou efluxo e manter a quantidade de sais do organismo. em um determinado nível, os peixes gastam energia (Jobling, 1994; Boeuf;Payan, 2001).

A salinidade também pode influenciar o desenvolvimento dos peixes através da ação de alguns hormônios. Existem hormônios que além da responsabilidade de regular a frequência de ingestão de alimentos e crescimento dos organismos, também possuem um papel na regulação osmótica do mesmo.

2.5 Adaptação das tilápias a salinidade

Dos factores determinantes na adaptação das tilápias à água salgada, destacam-se dois, sendo a idade e o tamanho dos peixes. Segundo Kubitza, no que concerne a tolerância a salinidade o tamanho do organismo é mais importante do que a idade.

Uma adaptação gradual, com o aumento da salinidade na ordem de 5‰ ao dia, resulta em melhor sobrevivência após a transferência da água doce para a água salgada em relação a uma transferência directa (Kubitza, 2000).

A partir deste ponto é recomendado um aumento gradual da salinidade não ultrapassando incrementos de 5‰ ao dia. Assim, são necessários cinco à sete dias para completar aclimação à água salgada (32 ‰ -35 ‰) para as espécies capazes de tolerar esta salinidade (Oliveira, 1995).

Segundo El – Sayed, (2006) situações como as variações nos parâmetros de qualidade da água, elevadas densidades de estocagem e restrições na alimentação apresentam grande impacto no bem-estar dos animais cultivados e o stress em peixes pode ser desencadeado por diversos tipos de agentes, como exemplo, de natureza física, como o transporte, o confinamento ou maneo; de natureza química, como os compostos nitrogenados, o baixo teor de oxigénio ou às variações de pH; e os perceptíveis pelos animais, como a presença de predadores.

2.6 Alterações comportamentais em peixes

O estresse em peixes é definido como sendo o conjunto de respostas que o organismo do animal apresenta diante de estímulos agressivos, desagradáveis e ameaçadores (Urbinati, Carneiro, 2004).

O estresse é uma condição causada por estímulos intrínsecos, denominados estressores, podendo

apresentar ação dupla, produzindo efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático, como desencadeando um conjunto coordenado de alterações comportamentais com o fim adaptativo para a sobrevivência animal (Bonga 1997).

Em peixes, as respostas ao estresse funcionam como um mecanismo para preservar a saúde frente às ameaças do agente estressor. A resposta com finalidade adaptativa apresenta como principal aspecto a realocação da energia metabólica de actividades de investimento, como a reprodução e o crescimento, para actividades de reestabelecimento da homeostase, como a respiração, locomoção, regulação osmótica e reparação de tecidos (Bonga, 1997).

Conforme Ashley (2007), Por ser uma questão de grande relevância para produtividade, a atenção e preocupação com o estresse na piscicultura têm aumentado consideravelmente nos últimos anos. O estresse pode ocorrer pelas condições do meio de cultivo, manejo, densidades de povoamento, transporte e pelo abate (Kloosterboer *et al.*, 2002), podendo gerar efeitos negativos na produção (Urbinati; Carneiro, 2004) , como baixo crescimento e alteração qualidade dos atributos da carne.

2.6.1 Abate em piscicultura

As técnicas de abate em piscicultura têm sido alvo de inúmeros estudos, com vários objectivos, entre os quais os de promover o controle de qualidade, a eficiência e a segurança dos procedimentos (Conte, 2004).

2.6.2 Abate por hipotermia

Segundo Ashley, (2007) em piscicultura o método de abate mais usado é o abate por hipotermia que consiste na submersão do peixe em água gelada, com temperaturas em torno de 1°C, até a perda das funções vitais.

2.7 Análises histológicas

As análises histológicas são cada vez mais reconhecidas como uma valiosa ferramenta para a avaliação da reação de organismos aquáticos expostos a condições ambientais de fora da sua zona de conforto (Teh; Adams; Hinton, 1997), possuindo algumas vantagens como a viabilidade de estudar peixes pequenos ou nos seus primeiros estágios de crescimento. Em peixes características histológicas de certos órgãos podem expressar condições ambientais e representar o tempo de exposição ao qual os organismos foram submetidos (Schmalz *et al.*, 2002).

2.7.1 Técnica histológica

A técnica histológica consiste em uma série de etapas com o objetivo de preparar determinado tecido a fim de ser analisado microscopicamente, seja por interesse de pesquisa científica ou de diagnóstico patológico (Manso & et al, 2010).

De entre os procedimentos realizados durante a técnica histológica, estão a coleta do material, fixação, clivagem, processamento, inclusão, microtomia e coloração. Para tecidos calcificados, além das etapas citadas, faz-se a descalcificação após a fixação da peça.

a) Colecta do material

Para que uma amostra de tecido seja analisada microscopicamente, é preciso, antes de tudo, que seja retirada do organismo, vivo ou morto, por meio de biópsia e/ou durante uma cirurgia, ou necropsia, respectivamente (Manso & et al, 2010).

b) Fixação

A fixação é a fase destinada a interromper o processo de autólise pelo qual qualquer tecido passa ao ser retirado do organismo ou após a sua morte (Manso & et al, 2010) . Além de interromper o metabolismo celular, conservando o aspecto natural dos tecidos, a fixação estabiliza as estruturas bioquímicas intra e extracelulares, permite a penetração de outros reagentes necessários no decorrer de todo o processamento histológico (como os agentes de coloração, por exemplo), impede que o tecido seja colonizado por micro-organismos e faz com que a amostra comece a endurecer (Aarestrup, 2012).

c) Clivagem

Após o processo de fixação, é necessário que seja feita a clivagem do material, ou seja, reduzir o tamanho das peças com o intuito de facilitar a penetração da substância fixadora em menor tempo, evitando assim, o processo de autólise (Michalany, 1990). Por padrão, os fragmentos teciduais devem ter cerca de 3 mm de espessura, mas em alguns casos o fragmento pode chegar a 5 mm (Manso & et al, 2010).

d) Desidratação

O material biológico, mesmo após a fixação, ainda retém cerca de 85% de água em seu interior (Michalany, 1990). E, como se sabe, a parafina é um produto derivado do petróleo, portanto, insolúvel em água. Desta forma, para que ela consiga penetrar no tecido processado, é necessário que a água presente seja retirada. Diversas substâncias desidratantes são eficazes, variando apenas o tempo de desidratação. Entre elas, pode-se citar os álcoois butílico, isopropílico e metílico, a acetona, o éter, o clorofórmio e o óxido (Manso & et al, 2010).

Porém, rotineiramente, é o álcool etílico o produto mais utilizado para esse fim. Durante o processo, pode-se observar que a peça recupera sua cor natural e diminui de tamanho, visto que, no espaço onde havia água, agora não há mais. Aconselha-se que a desidratação do tecido seja feita de forma progressiva quanto à graduação alcoólica, e não diretamente com o álcool absoluto. Isto porque uma desidratação muito rápida provoca maior retração do tecido, podendo ocasionar artefatos posteriores. Mas, segundo Masson (Michalany, 1990), uma desidratação a partir do álcool absoluto produz excelentes resultados.

e) Diafanização ou clarificação

Como dito anteriormente, a parafina é insolúvel em água, e muito pouco em álcool. Desta maneira, faz-se necessário que o álcool presente nas peças após o processo de desidratação seja substituído por um produto com o qual a parafina tenha afinidade (Michalany, 1990). Dentre os produtos diafanizadores conhecidos estão o xilol, toluol, benzeno, óleo de cedro e os solventes universais acetato butílico, dióxido dietileno e benzoato metílico (Souza Junior, 2010). No processamento histológico de rotina, o xilol é o mais utilizado, e, conforme vai penetrando na peça, em substituição ao álcool, a peça vai se tornando mais clara, motivo pelo qual a etapa pode também ser chamada de clarificação (Michalany, 1990).

f) Impregnação

Nessa etapa, as peças são infiltradas por alguma substância de consistência firme para que adquiram rigidez suficiente e seja possível a realização de cortes finos. São vários os materiais utilizados para esse fim, como parafina, resina, ágar, gelatina, parafina plástica, goma arábica, polietileno glicol, parafina esterificada e celoidina (SUVARNA & et al, 2013), porém as mais utilizadas no processamento histológico de rotina são a parafina e a resina.

g) Inclusão

Enquanto na etapa anterior a parafina penetra nos tecidos, ocupando os espaços anteriormente preenchidos por água e gordura, na inclusão a parafina envolve o exterior da peça e, após esfriar e endurecer, forma um bloco que será submetido posteriormente à microtomia (Aarestrup, 2012)

h) Microtomia

Para que seja possível analisar um tecido em microscópio óptico, é necessário que esteja disposta na lâmina uma seção bem fina do tecido. Rotineiramente, nos laboratórios recomenda-se a espessura de 4 a 6 micrômetros, que é a espessura ideal para a passagem de luz e evidenciação do tecido em microscópio (Manso & et al, 2010).

i) Coloração e montagem

Após os procedimentos realizados, as células se encontram incolores, transparentes. Portanto, para que seja possível sua visualização em microscópio óptico, é necessário que os tecidos sejam corados. Há diversos tipos de corantes utilizados, naturais ou artificiais, que podem se ligar a estruturas celulares específicas, de acordo com sua afinidade química (Souza Junior, 2010). A coloração dos tecidos pode ser feita através de corantes, de reações químicas especiais (histoquímica) ou de deposições metálicas (Michalany, 1990)

j) Hematoxilina e eosina

A combinação bicrômica considerada coloração universal em histologia e histopatologia é a hematoxilina e eosina (HE) (Aarestrup, 2012). A hematoxilina, corante natural oriundo de fonte vegetal, tem propriedade de corar os núcleos das células (ricos em substâncias ácidas, os ácidos nucleicos) de roxo-azulado devido ao seu caráter básico. Por si só, a hematoxilina não é um corante, e para se tornar um, necessita ser oxidada em hemateína. Ainda assim, o corante formado pela associação com a hemateína não possui afinidade com os tecidos, sendo necessária a utilização de um mordente, normalmente alumínio ou ferro. A eosina, atraída pelos elementos básicos das proteínas citoplasmáticas, confere uma coloração rósea avermelhada ao citoplasma, sendo um corante acidófilo (Souza Junior, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização da área de estudo

O presente estudo foi realizado no departamento de Melhoramento genético do Centro de Pesquisa em Aquacultura (CEPAQ), localizado no distrito de Chókwe, na província de Gaza (figura 4), em Junho de 2023.

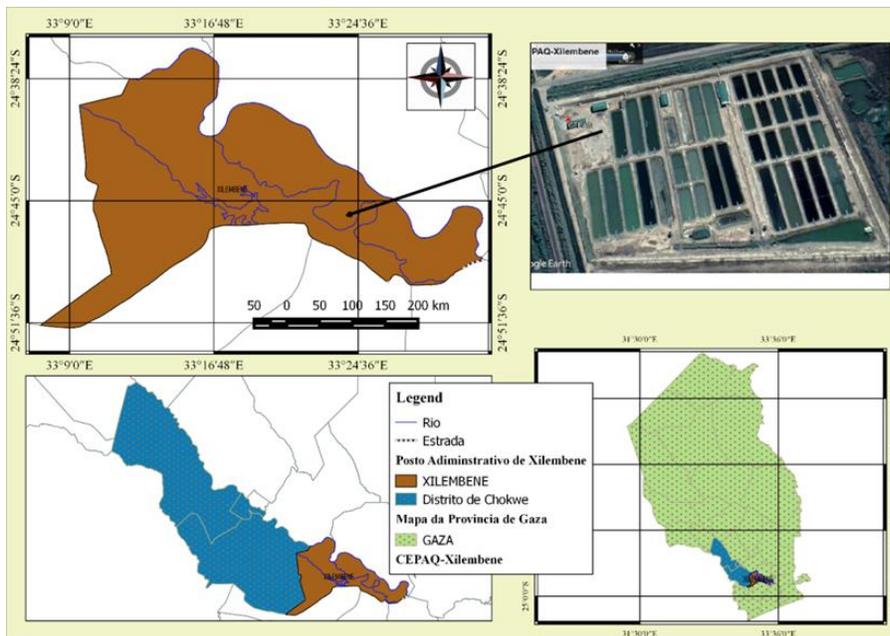


Figura 4: Mapa de localização da área de estudo.

3.2 Delineamento Experimental

O ensaio foi assente no Delineamento Completamente Casualizado (DCC), apresentando cinco tratamentos e três repetições dos quais:

T₀ -Submissão a água doce do canal;

T₁ – Aumentos de salinidade de 5 em 5‰ (5‰ - 30‰);

T₂ - Aumentos de salinidade de 10 em 10 ‰ (10‰ - 30‰);

T₃ - Aumentos de salinidade de 15 em 15 ‰ (15‰ - 30‰);

T₄ – Transferência directa (0-30‰);

3.3 TRATAMENTOS

Tabela 2: Layout dos tratamentos

T ₁ 5‰	T ₂ 10‰	T ₃ 15 ‰	T ₄ 0-30 ‰	T ₀ 10‰
T1R1	T2R1	T3R1	T4R1	T0R1
T1R2	T2R2	T3R2	T4R2	T0R2
T1R3	T2R3	T3R3	T4R3	T0R3

3.4 Procedimentos

3.4.1 Obtenção do meio de cultivo

A Tabela abaixo ilustra os materiais usados na obtenção do meio de cultivo.

Tabela 3: Materiais usados na obtenção do meio de cultivo.

Ordem	Denominação	Quantidade
I	Água do mar	Variável
II	Água doce do canal	Variável
III	Refratômetro portátil	1
IV	Multiparâmetro	1

Fonte: (Autora, 2023)

Segundo José (2019), para a obtenção das salinidades desejadas, foi colhida água do mar e feita uma diluição com a água doce do meio de cultivo, segundo a equação de diluição (equação 1). As medições dos gradientes de salinidade foram realizadas usando o refratômetro portátil (Instrutherm RTS-101ATC-03137) com precisão de 1‰.

As concentrações de salinidade utilizadas no estudo foram definidas de acordo com estudos realizados por Junior, 2010 onde foi avaliada a resistência de à salinidade, sobrevivência e e mortalidade de alevinos de tilápia vermelha (*oreochrmis* sp) e José, 2019 em tolerância de Juvenis de tilápia de Moçambique à diferentes níveis de salinidade da água.

Equacao 1: Equação de diluição

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Onde:

C1 ↔ Valor da concentração de água do mar colhida;

V1 ↔ Volume inicial do recipiente;

C2 ↔ A concentração que se preten de determinar nessas salinidades;

V2 ↔ Volume final do recipiente.

O experimento teve uma duração de 12 dias. Foram usados em cada repetição 10 alevinos de Tilápia de Moçambique com peso médio de 5g submetidos a aumentos graduais dos níveis de salinidade a cada 48 horas com aeração constante (figura 5) e fornecimento da ração uma vez ao dia, com as renovações de água feitas a cada aumento das concentrações de salinidade segundo a metodologia descrita por Redvet, 2010.



Figura 5: Aclimação a salinidade.

Tabela abaixo ilustra como decorreram os aumentos nos níveis de salinidade durante a aclimatação.

Tabela 4: Aumentos nos níveis de salinidade durante o experimento.

Aumentos de salinidade					
Tempo(h)	↑5‰	↑10‰	↑15‰	0→30‰	0‰
	0	0	0	0	0
48h	5	10	15	0 – 30	0
48h	10	20	30	-	0
48h	15	30	-	-	0
48h	20	-	-	-	0
48h	25	-	-	-	0
48h	30	-	-	-	0

Fonte: (Autora, 2023)

3.5 Parâmetros avaliados

3.5.1 Monitoramento dos parâmetros de qualidade de água

Foram feitas medições dos parâmetros de qualidade da água, a temperatura, oxigénio dissolvido, potencial de hidrogénio duas vezes ao dia (08h e 14:00 horas) durante todo o experimento através do oxímetro de referência Oxyguard (*Hand-yPolaris*) e do multiparâmetro *aquaread* que constam na figura 6.



Figura 6: Multi-Parâmetro, oxímetro, o refratômetro portátil (A); Medição do nível de salinidade (B)

3.5.2 Descrição das alterações comportamentais

Foram observadas alterações comportamentais de estresse por avaliação visual conforme Aysel (2010), diariamente ao longo dos 12 dias do experimento. Tendo sido avaliados em 10 peixes por repetição, os níveis de agressões, saltos, postura atordoada, natação errática, movimento dos opérculos e classificados em nenhum (-), ligeiros (+), moderados (++) e graves (+++).

3.5.3 Determinação da taxa de sobrevivência

Durante o experiento a taxa de sobrevivência foi mensurada por tratamento depois da adaptação a cada aumento dos diferentes gradientes de salinidade tendo sido depois de 48 horas, 96 horas, 144 horas, 192 horas, 240 horas e 288 horas, Rdvet (2010).

Equação 2: Determinação da taxa de sobrevivência

$$\text{Taxa de sobrevivência \%} = \frac{\text{Número de peixes final}}{\text{Número de peixes povoados inicialmente}} * 100$$

Fórmula [2] (Acar *et al.*, 2015; Gabriel *et al.*, 2015)

Para a interpretação dos dados de sobrevivência obtidos no experimento, estes foram processados no pacote Microsoft Excel e submetidos a análise estatística conduzida no pacote Rstudio, versão 2023.09.0 (build 463).

3.6 Avaliação das alterações histológicas

Nesta etapa, foram observadas possíveis lesões histológicas nas brânquias de três alevinos por repetição de cada tratamento no laboratório da faculdade de veterinária (FAVET) da Universidade Eduardo Mondlane (UEM).

Tabela 5: Avaliação das alterações histológicas.

Tratamentos	Histologia	Quant.
	Órgão	
Aumento de salinidade a 5‰	Brânquias	9
Aumento de salinidade a 10‰	Brânquias	9
Aumento de salinidade a 15‰	Brânquias	9
Transferência direta (0-30‰)	Brânquias	9
0 ‰ de salinidade	Brânquias	9
Total de amostras	45	

Fonte: (Autora, 2023)

3.7 Colecta e conservação das amostras

Para a colecta e conservação das amostras foram necessarios os materiais descritos na tabela abaixo.

Tabela 6: Materiais usados para a colecta e conservação das amostras.

Ordem	Denominação	Quantidade
I	Luvas	02
II	Tesoura cirúrgica	01
III	Bisturi	01
IV	Formol a 10%.	Variável
V	Água gelada	Variável
VI	Bandeja plástica	01
VII	Pipeta	01

VIII	Marcador	01
IX	Tubos de falcão	45

Fonte: (Autora, 2023)

Foram retirados de cada tratamento nove alevinos de tilapia moçambicana e feito o seu abate através do método de hipotermia que consistiu na submersão dos alevinos em recipientes com água gelada com temperaturas em torno de 1°C até a morte. De seguida, foi colectada a brânquia completa de cada amostra de alevino e fixada em formol a 10% (Figura 7).

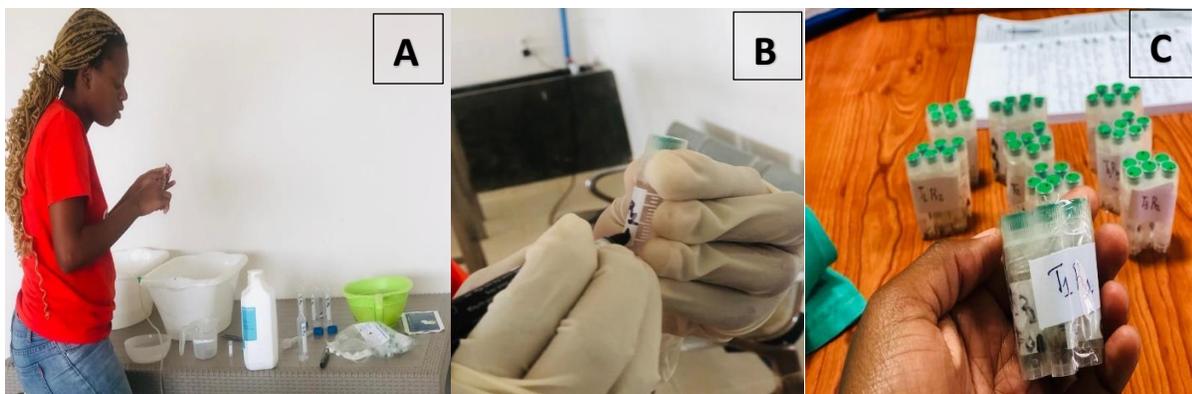


Figura 7: Colecta de amostras (A); Idetificação de amostras (B); Conservação de amostras (C).

3.8 Procedimentos da técnica histológica

Na fase de preparação do material para a posterior observação foram seguidos os procedimentos da Técnica histológica descritos por (Manso & et al, 2010), apresentados a seguir:

- Clivagem - após o processo de fixação seguiu-se o processo de clivagem do material, que consistiu na redução do tamanho das peças com o intuito de facilitar a penetração da substância fixadora em menor tempo, de forma a evitar o processo de autólise do material por observar;
- Desidratação - desidratou-se o material biológico em graduações alcoolicas progressivas: álcool a 70%, 80%, 96% e 99,9% para a retirada da remanescente percentagem de água resultante do processo de fixação (Figura 8);



Figura 8: Desidratação a 70% (A); Desidratação a 80% (B); Desidratação a 96% (C); Desidratação em álcool absoluto (D).

- Diafanização - no processo de diafanização as cacetes foram mergulhadas em xilol a fim de que o álcool presente nas peças após o processo de desidratação fosse substituído por um produto com o qual a parafina tenha afinidade (figura 9);



Figura 9: Processo de Diafanização em xilol

- Impregnação - seguiu-se-a impregnação onde as cacetes foram introduzidas em um dispensador de parafina de modo que as peças adquirissem rigidez suficiente para que fosse possível a realização de cortes finos (figura 10).



Figura 10: Impregnação do material biológico em parafina.

- Inclusão - as cacetes foram incuídas em moldes metálicos e envolvidas em parafina derretida para a formação dos blocos e de seguida enduceridos em uma placa fria (figura 11);



Figura 11: Inclusão do material biológico.

- Microtomia - no processo de microtomia os blocos foram cortados em um micrótopo com lâmina com espessura de 4 a 6 micrômetros;
- Coloração – Os tecidos foram corados através do método de coloração universal em histologia e histopatologia, a hematoxilina e eosina que consistiu em mergulhar as lâminas durante 5 minutos em xilol , 5 minutos em álcool a 96%, 5 minutos em álcool a 70%, 5 minutos em água destilada, filtrar por 10 minutos em hematoxilina, lavagem em água destilada, azular por 5 minutos em água corrente, lavagem rápida em água destilada, eosina por 5 minutos, passagem por álcool a 96%, álcool absolute, xilol e montagem (figura 12);



Figura 12: Coloração em hematoxilina e eosina.

- Montagem – o processo de montagem ou selagem da lâmina, consistiu em cobrir o tecido corado com uma lamínula de vidro. Para a fixação da lamínula na lâmina, foi usado o bálsamo do Canadá (figura 13);



Figura 13: Montagem lamelas

- Observação das lâminas – os tecidos nas lâminas foram observadas em um microscópio óptico (figura 14).



Figura 14: lâminas para observação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros de qualidade de água

Os parâmetros químicos monitorados no presente estudo de aclimação de alevinos de tilápia moçambicana a salinidade foram o oxigénio, pH e a salinidade da água, enquanto que físico foi a temperatura da água.

Tabela 7: Valores médios dos parâmetros de qualidade de água mensurados durante o experimento.

Parâmetros	Médias semanais				
	Semana I				
	T1 ↑5‰	T2 ↑10‰	T3 ↑15‰	T4 (0-30‰)	T0 0‰
Temperatura manhã (°C)	26,5±0,21	26,5±0,23	26,5±0,24	26,6±0,28	26,6±0,28
Temperatura Tarde (°C)	27.1±0,14	26.9±0,17	27.0±0,14	26.9±0,17	27.1±0,18
Oxigénio manhã (mg/l)	3,0±1,55	3,3±1,58	2,9±1,34	3,3±1,68	3,4±1,46
Oxigénio tarde (mg/l)	2,3±1,03	2,2±1,02	2,3 ±1,03	2,1±1,04	2,3±1,03
pH manhã (mg/l)	7,1±0,63	6,8±0,76	6,9 ±0,76	6,7±0,62	6,6±0,84
pH tarde (mg/l)	7,3±1,08	7,3±63	7,0 ±0,86	7,2±0,82	6,9±1,06

4.1.1 Temperatura

No cultivo de organismos aquáticos, a temperatura é um parâmetro de grande importância, pois influencia directamente em outros parâmetros de qualidade de água como a produtividade primária e o oxigénio dissolvido do meio. Assim como influencia na velocidade das reações químicas e solubilidade dos gases (Sousa, 2001).

De acordo com Kubitzka (2000), tilápias são peixes tropicais que apresentam conforto térmico entre 27 a 32°C. Para Amaral e Ferraz (2010), a variação nictemeral da temperatura na piscicultura tropical pode atingir valores de 23° C no período da manhã, tendo se apresentado os valores deste

parâmetro no presente estudo em todos os tratamentos no padrão normal, não influenciando na taxa de mortalidade. No presente estudo, foram registradas em todos os tratamentos médias de temperatura dentro do padrão de conforto estabelecido por Kubitza para esta espécie, não tendo influenciando nas mortalidades dos alevinos no experimento.

4.1.2 Oxigénio

As tilápias são espécies bastante tolerantes a variações para os baixos níveis de oxigénio. Segundo Bhujel (2000), a tilápia de Moçambique pode tolerar baixos níveis de oxigénio dissolvido de 0.1 mg/l por curtos períodos. Assim sendo, para Kubitza (2009), durante o cultivo os níveis de oxigénio dissolvido no meio aquático dever ser mantidos no mínimo acima de 40% de saturação ou seja 3 mg/l. Neste estudo foram apresentadas as médias de oxigénio dissolvido (mg/l) e mantido durante o experimento dentro das faixas recomendadas. Para Kubitza (2009), A relação entre o oxigénio dissolvido com a salinidade do meio e a temperatura é inversamente proporcional podendo influenciar nos níveis deste parâmetro no ecossistema nos períodos da manhã e da tarde não indo de acordo com a regra do padrão de comportamento do oxigénio dissolvido nas primeiras horas do dia para Kubitza (2000)

4.1.3 pH

Em aquacultura a qualidade da água pode determinar o sucesso ou o fracasso de um ciclo de produção. Segundo Sousa (2001) a concentração do potencial hidrogénio (H^+) é um dos parâmetros de qualidade da água mais importantes pois controla a actividade biológica do meio de cultivo que maioritariamente só é possível com valores de pH entre 6 a 8. Valores de pH abaixo de 5,0 é fatal a maioria dos peixes, valores entre 5,0 e 6,0 resulta no baixo desempenho produtivo, entre 6,5 a 9,5 permite um desenvolvimento satisfatório, entre 7,0 a 8,5 é a faixa ideal ao desenvolvimento dos peixes e acima de 11,0 também é fatal (Kubitza, 2000). Durante a realização deste estudo os valores de pH mantiveram-se dentro das faixas recomendadas. Tendo apresentado médias adequadas tanto no período de manhã quanto de tarde em todos os tratamentos.

4.2 Descrição das alterações comportamentais

Para este capítulo foi observada a resposta dos alevinos em relação aos diferentes meios de adaptatação a salinidade. Tendo sido descritas na tabela 8.

Tabela 8: Descrição das alterações comportamentais.

As alterações comportamentais variaram de nenhum (-), ligeiras (+), moderadas (++) a graves (+++).

Sinais clínicos	Aumentos de salinidade				
	T1 ↑5- 30‰	T2 ↑10- 30‰	T3 ↑15- 30‰	T4 0-30‰	T0 0‰
Agressões	-	+	++	+++	-
Salto	-	++	++	+++	-
Postura atordoada	-	++	++	+++	-
Natação errática	-	++	++	+++	-
Movimento dos opérculos	-	++	++	+++	-



Figura 15: Alterações comportamentais nos diferentes tratamentos.

As agressões, saltos, postura atordoada, natação errática e movimentos dos opérculos em altas salinidades podem ser indicadores morfológicos dos limites de tolerância a agente estressor. Segundo (Morgan & Iwama , 1991), o aumento da frequência opercular que indica um mecanismo adaptativo a ambientes hipersalinos é devido a secreções excessivas de muco. Pois o muco nas brânquias reduz a actividade respiratória dos peixes impossibilitando a realização activa das trocas gasosas (Anur & et al, 2011).

Segundo (Lawson & Anetekhai, 2011), num estudo sobre a tolerância e preferência da tilápia do nilo à salinidade constatou que alevinos de tilápia submetidos a altas salinidades apresentaram

natação errática, postura atordoada e saltos durante a natação indicando que os alevinos estavam se aproximando do seu limite de tolerância e perda de água em ritmo acelerado para o meio externo como foi o caso dos tratamentos 4 e 3.

Neste estudo, os alevinos de tilápia moçambicana no tratamento de aumento de salinidade a 5‰ não apresentaram alterações comportamentais, tendo se adaptado a este protocolo de aclimação, porém nos outros tratamentos as alterações comportamentais variaram de ligeiras a graves.

4.3 Alterações histológicas em alevinos de tilápia moçambicana submetidos a diferentes aclimações a 30‰ de salinidade

Neste capítulo são apresentados resultados sobre as alterações histológicas em alevinos de tilápia moçambicana submetidos a aclimação a diferentes gradientes de salinidade. Descritos na tabela abaixo.

Tabela 9: Alterações histológicas em alevinos de tilápia moçambicana submetidos a aclimação a diferentes gradientes de salinidade.

Tratamentos	Repetições		
	R 1	R 2	R 3
T ₀ Água doce	-	-	-
T ₁ Aumentos a 5‰	Fusão lamelar+	Fusão lamelar+	Fusão lamelar+
T ₂ Aumentos a 10‰	Fusão lamelar++	Fusão lamelar++	Fusão lamelar++
T ₃ Aumentos a 15‰	Hiperplasia lamelar++	Hiperplasia lamelar++	Hiperplasia lamelar++
	Fusão lamelar++	Fusão lamelar++	Fusão lamelar++
T ₄ Transferência directa	Hiperplasia lamelar+++	Hiperplasia lamelar+++	Hiperplasia lamelar+++
	Fusão lamelar+++	Fusão lamelar +++	Fusão lamelar +++
	Necrose no tecido+++	Necrose no tecido+++	Necrose no tecido+++

As alterações foram classificadas nenhum (-), ligeiros (+), moderados (++) e graves (+++).

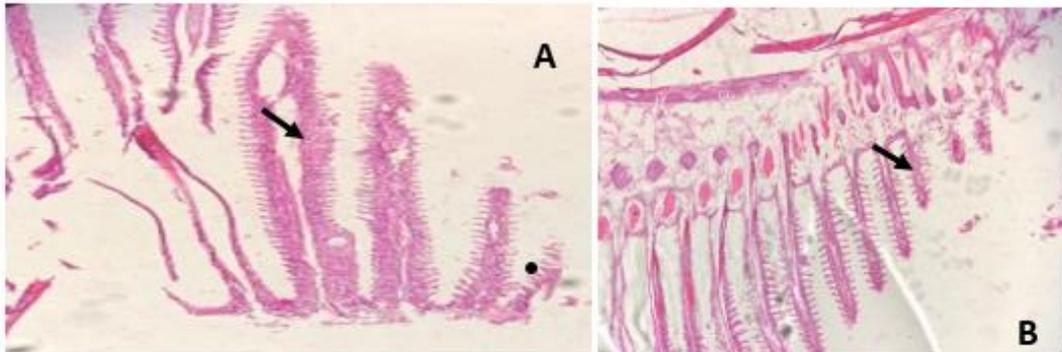


Figura 16: Estrutura branquial da tilápia moçambicana, exposta a 30‰ de salinidade (A), Apresentando hiperplasia lamelar, seta (fusão lamelar), bolinhas (necrose). Em (B) estrutura branquial da tilápia moçambicana, aclimatada a 30‰ com aumentos de salinidade a 5‰ seta (fusão lamelar). (Colorção hematoxilina e eosina, objectiva 40x).

Nos tratamentos de aumentos de salinidade nos níveis de 5‰ e 10‰, foram observadas fusões lamelares que variaram de ligeiras a moderadas, nos tratamentos de aumentos de salinidade nos níveis de 15‰ e transferência directa as alterações histológicas observadas foram hiperplasia lamelar, fusão lamelar e necroses variando de ligeiros a graves.

Lawson (2011), no estudo sobre a tolerância e preferência da tilápia do nilo à salinidade onde foram expostos directamente da água doce para 35‰ de salinidade, constatou que transferências directas da água doce para ambientes com altas concentrações de salinidade podem levar os peixes desenvolver falhas osmoregulatória causando graves lesões histopatológicas nas brânquias como hiperplasia, fusão lamelar e necroses. Salinidades elevadas e tóxicas na água culminou com lesões graves nas brânquias como edema e necroses (Yohona M, Pablo., 2007).

Mallat num estudo sobre alterações na estrutura branquial de peixes de água doce submetidos salinidades elevadas concluiu que as lesões branquiais mais comuns induzidas por substâncias tóxicas e agentes químicos como a salinidade, são necrose, hiperplasia e fusões lamelares.

Segundo Ajani num estudo sobre respostas hormonais e hematológicas de *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) à toxicidade por nitrato, a degeneração das brânquias causa disfunção na capacidade de troca gasosa dos peixes causando um comportamento interno anóxico.

Neste estudo a brânquia dos alevinos do grupo controle não apresentou lesões histológicas nos tecidos tendo se revelado no estado normal com filamentos branquiais, lamelas e branquispinhas completas. Nos tratamentos de aumentos de salinidade a 5‰, 10‰, 15‰ e transferência directa (0-30 ‰) houve lesões que variaram de ligeiras a graves. Tendo se adaptado melhor os peixes submetidos a aumentos de salinidade a 5‰-30‰, com lesões histológicas ligeiras osmoregular-se estabilizando as trocas gasosas entre si e o meio.

4.4 Taxa de sobrevivência de alevinos de tilápia de Moçambique submetidos a salinidade

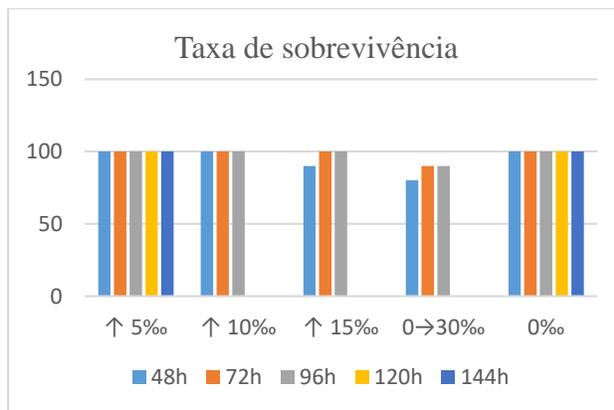


Figura 17: Taxa de sobrevivência de alevinos de tilápia moçambicana submetidos a salinidade.

Num pré-experimento realizado, alevinos de tilápia moçambicana foram submetidos a transferências directas de 0- 20‰, 0- 25‰, 0- 30‰ e 0- 35‰ de salinidade durante 72 horas. Depois de 24 horas taxas de sobrevivência foram apenas registradas nas salinidades de 20 e 25‰. Gráfico em anexo

De acordo com (Holliday & Jones, 1967), a sobrevivência dos peixes depende da capacidade dos fluídos corporais de funcionarem, pelo menos por curto período de tempo, em faixas anormais de concentrações osmóticas e iônicas internas anormais. A migração ou transferências bruscas de peixes da água doce para água do mar normalmente levará o aumento da concentração osmótica do soro sanguíneo do peixe e a alteração do conteúdo iônico.

Segundo (Deacon & Hecht, 1999), em um estudo sobre o efeito da salinidade no crescimento observaram mortalidades em alevinos expostos à salinidades de 20‰ após 24 horas podendo ser consequência da deterioração progressiva dos mecanismos reguladores osmóticos e iônicos,

incluindo a incapacidade dos peixes de controlar a perda excessiva de água, levando a exaustão osmorregulatória, seguida de colapso e morte.

Neste estudo, a taxa de sobrevivência manteve-se aos 100% em todos os tratamentos testados durante as 48 horas, 72 horas e 96 horas e só depois de 120 horas houve registro de mortalidades.

4.4.1 Taxa de sobrevivência segundo a estatística

Os dados processados no pacote Rstudio não respeitaram os pressupostos de análise de variância depois de transformados, tendo havido a necessidade de se recorrer a análise não paramétrica de variância pelo teste de Kruskal-wallis onde verificou-se a significância pelo mesmo a nível 5% ($\leq 0,05$) pois o valor de P obtido foi de 0,01321.

Conforme a Figura 15, que representa os resultados médios da taxa de sobrevivência de alevinos da tilápia moçambicana submetida a aumentos de salinidade, foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos tratamentos T0 (tratamento controle), T1 (aumentos de salinidade de 5‰-30‰), T2 (aumentos de salinidade de 10‰-30‰), T3 (aumentos de salinidade de 15‰-30‰) e T4 (transferência directa) sendo que a maior taxa de sobrevivência foi verificada nos tratamentos controle, T1 (aumentos de salinidade de 5‰-30‰) com sobrevivência de 10 alevinos e T2 (aumentos de salinidade de 10‰-30‰) tendo registrado como média de sobrevivência 9,67 alevinos e o pior desempenho no tratamento T4 (transferência directa) onde não houve nenhuma sobrevivência.

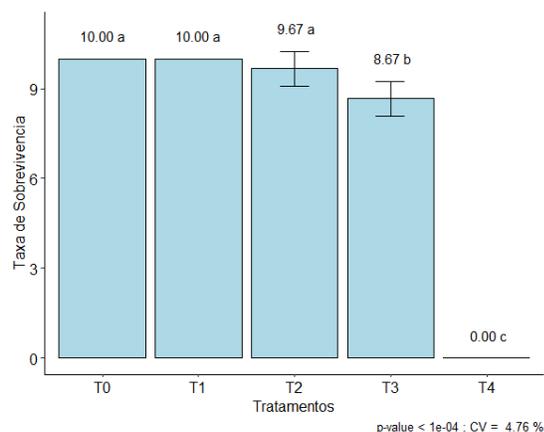


Figura 18: Taxa de sobrevivência submetida a análise de variância.

Fonte: Autora.

Todas as médias que partilham a mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Kruskal-wills a 5% de significancia. T0 (tratamento controle), T1- (adapatação com aumentos de 5‰-30‰) e T2- (adaptação com aumentos de 10‰- 30‰de salinidade).

5 CONCLUSÃO

Findo o estudo sobre a aclimação de alevinos de tilápia moçambicana à salinidade, pôde-se concluir que:

- ✓ Esta espécie apresenta um potencial promissor para a sua introdução e cultivo em ambientes de água salgada;
- ✓ Transferências directas de peixes de água doce para altas concentrações de salinidade são prejudiciais e letais;
- ✓ Aumentos graduais do teor salino para a aclimação e introdução de uma espécie de água doce a ambientes marinhos são mais eficazes podendo gerar melhor produtividade e rendimento dos organismos em cultivo;

6 RECOMENDAÇÕES

- ✓ Para os próximos estudos relacionados a aclimação da tilápia moçambicana a salinidade recomenda-se que sejam testados diferentes intervalos de tempo de aclimação e subida dos gradientes de salinidade para um possível ajuste e redução do período de aclimação;
- ✓ Recomenda-se que sejam realizados estudos de avaliação de desempenho zootécnico da tilápia (*Oreochromis mossambicus*) nas diferentes condições de aclimação a salinidade testadas;
- ✓ Sejam realizados mais estudos sobre a aclimação de mais espécies de água doce tolerantes a salinidade para a sua introdução a estes ambientes;

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarestrup, B. J. (2012). *Histologia: essencial*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Anur, A. N., & et al. (2011). *Efeito de um estrato metanolico de melaleuca cajuputi em bagres africanos (Clarias gariepinus)*.
- Breves, J. P., & et al. (2020). *Pituitary control of branchial NCC, NKCC and Na⁺, K⁺-ATPase α -subunit gene expression in Nile tilapia, Oreochromis niloticus*.
- Canonico, G. C., & et al. (2019). *The effects of introduced tilpaias on native biodiversity*. Inglaterra.
- Carneiro. (2018). Produção de tilápias vermelhas da Flórida em tanquesrede em represa rural.
- Deacon, N., & Hecht, T. (1999). *O efeito da salinidade reduzida no crescimento, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica em juvenis grunhidos manchados, Pomadasys commersonni (Lecepede) (Teleotei Haemulidadae)*.
- El-zaeem, S. Y., & et al. (2019). Production of salinity tolerant tilapia through interspecific hybridization between Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis sp.*). pp. 2955-2961.
- Greiner, R., & Gregg, D. (2019). Tilapia in north Queensland waterways: Risks and potential economic impacts. Australian Centre for Tropical Freshwater Research.
- Holliday, F., & Jones, M. (1967). *Alguns efeitos da salinidade no desenvolvimento de ovos e larvas da solha (Pleoronectes platessa)*.
- Huertas, M., & et al. (2018). Tilapia male urinary pheromone stimulates female reproductive axis.
- José, C. F. (2019). *Estudo de Tolerancia dos Juvenis de Tilapia (Oreochromis mossambicus) a Diferentes Niveis de Salinidade da Agua*.
- Kubitza. (2005). *Tilápia em Água Salgada*.
- Kubitza, F. (2005). *Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Panorama da Aquicultura*,. Brazil.
- Lawson, E. O., & Anetekhai, M. A. (2011). *Tolerância a salinidade e preferencia de tilapia do Nilo criada em incubatório, Oreochromis niloticus (Linnaeus 1758)*.
- Manso, P. P., & et al. (2010). *Conceitos e metodos para formacao de profissionais em laboratorios de Saude*. Rio de Janeiro, Brazil.
- Maughan, & et al. (2019). *Pest Fish Profiles: Oreochromis mossambicus –Mozambique tilapia*.
- Michalany, J. (1990). *Técnica histológica em anatomia patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico* (2 ed.). São Paulo.

- Monteiro, O. M., & et al. (2020). *Fine structure of the branchial epithelium in the teleost Oreochromis niloticus*. *Journal of Morphology*.
- Monteiro, S. M., & et al. (2019). Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. pp. 375-383.
- Morgan, J. D., & Iwama, G. K. (1991). *Efeitos da salinidade no crescimento, metabolismo e regulação de ions em juvenis de truta arco-iris e truta prateada (Oncorhynchus mykiss) e salmão chinook de outono (Oncorhynchus tshawytscha)*.
- Oliveira, R. (1995). *Etologia Social e Endocrinologia Comportamental da Tilapia Oreochromis mossambicus*. Lisboa, Portugal.
- Ostini, S. (2020). ACLIMAÇÃO E DESEMPENHO DE TILÁPIAS (OREOCHROMIS SP.) EM SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA DO MAR.
- Perschbacher, W. P., & Mcgeachin, B. R. (2021). Salinity tolerance of red tilapia fry, juveniles and adult. pp. 415-419.
- Peters. (1852). Caracterização da reprodução e ensaios de crescimento da Tilápia Moçambicana (*Oreochromis mossambicus*).
- Prain, M., & et al. (2021). Structural organization of the gills in pipefish (Teleostei, Syngnathidae). pp. 161-168.
- Ribeiro, O. (2017). *nteração entre a temperatura e o sulfato de cobre na histologia da brânquia de tilápia, Oreochromis mossambicus*.
- Ribeiro, O., & et al. (2022). A MORFOLOGIA E FUNÇÃO DA BRÂNQUIA DE PEIXES TELEÓSTEOS. 11.
- Souza Junior, J. C. (2010). *Controle de qualidade em lâminas histológicas: importância da metodologia de H/E no diagnóstico médico*. São Paulo, Basil.
- SUVARNA, S. K., & et al. (2013). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7 ed.). London.
- Villega. (2020). *Evaluation of the salinity tolerance of Oreochromis mossambicus, O.niloticus and their F1 hybrids*. *Aquaculture* (Vol. 85).

8 ANEXOS

Tabela 10: Taxa de sobrevivência durante a aclimação

Taxa de sobrevivência durante a aclimação							
Aclimação ‰	N° de alevinos	Tempo(h)	N° inicial de alevinos	↑ 5‰	↑ 10‰	↑ 15‰	0→30‰
↑ 5‰	10	48h	10	10	10	10	0
↑ 10‰	10	96h	10	10	10	8	0
↑ 15‰	10	144h	10	10	10		0
0-30‰	10	192h	10	10			0
0‰	10	240h	10	10			0
		288h	10	10			0

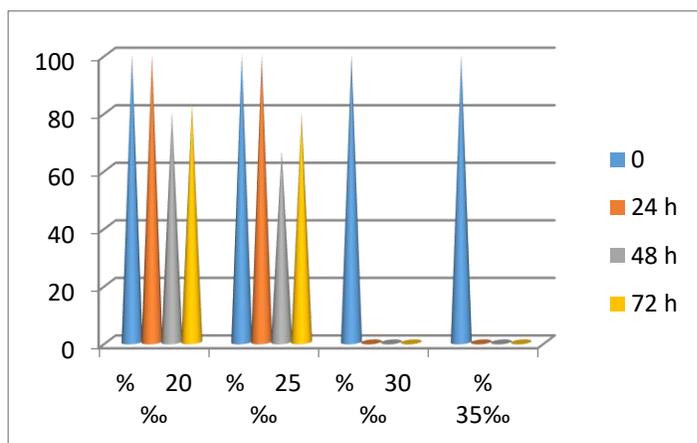


Gráfico 1: Taxa de sobrevivência de pré-experimento onde alevinos de tilápia moçambicana.

FOTOGRAFIA

DESCRIÇÃO



Impregnação do material em parafina, após o processo de desidratação crescente e álcool e xilol.



A imagem ilustra o processo de coragem das lâminas em hematoxilina e eosina.



Estrutura branquial da Tilápia, expostos a 0%. (Coloração hematoxilina e eosina, objectiva x 40)