

# DESEMPENHO E ESPERMATOGÊNESE DE ALEVINOS DE TILÁPIA ALIMENTADOS COM FARELO OU FARINHA DE SEMENTE DE ALGODÃO<sup>1</sup>

ANA LÚCIA SALARO<sup>2</sup>, LUIZ EDIVALDO PEZZATO<sup>3</sup>,  
MARGARIDA MARIA BARROS<sup>4</sup> e CARLOS ALBERTO VICENTINI<sup>5</sup>

**RESUMO** - Este trabalho avaliou o efeito do farelo e da farinha de semente de algodão no ganho de peso e na atividade testicular de alevinos de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). Cento e cinquenta alevinos com peso médio inicial de 1,26 g foram mantidos em aquários de 45 L, com renovação contínua d'água, e alimentados por 120 dias com dietas isoprotéicas (28% PB) e isocalóricas (4.030 kcal EB/kg de ração) contendo 0%, 2%, 4% e 6% de semente de algodão descorticada e moída, e 24% de farelo de algodão. Foi observado que os níveis avaliados interferem na atividade testicular, diminuindo a espermatogênese, embora não tenham comprometido de forma significativa o ganho de peso dos alevinos.

Termos para indexação: ganho de peso, atividade testicular, gossipol, fator antinutricional, sistema reprodutor, *Oreochromis niloticus*.

## PERFORMANCE AND SPERMATOGENESIS OF NILE TILAPIA FINGERLINGS FED WITH COTTONSEED MEAL OR COTTONSEED FLOUR

**ABSTRACT** - This experiment evaluated the effect of cottonseed meal or cottonseed flour on growth and testis activity of Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*). One hundred and fifty fingerlings with mean initial weight of 1.26 g were maintained in 45 L aquaria with continuous water supply. Fish were fed in isoproteic (28% CP) and isoenergetic (4,030 kcal CE/kg of ration) diets during 120 days. The experimental diets comprised a control diet, without cottonseed flour or meal, and diets containing 2%, 4% and 6% of cottonseed flour and 24% cottonseed meal. The results indicated that the use of seed flour or meal should be limited since at the tested levels they interfered with testis activity although they had not adversely affected the weight gain of fingerlings.

Index terms: weight gain, testis activity, gossypol, antinutritional factor, reproductive system, *Oreochromis niloticus*.

## INTRODUÇÃO

Embora diversos subprodutos agroindustriais de origem vegetal apresentem potencial para emprego

em dietas para peixes, a maioria deles contém fatores antinutricionais que, dependendo do processamento ao qual foram submetidos, podem interferir no desempenho produtivo desses animais. Conforme tendência mundial, o farelo de algodão tem sido amplamente utilizado na confecção de rações para peixes, mesmo sendo escassas as informações sobre o efeito do gossipol nos peixes tropicais.

Quando comparado aos outros monogástricos, os peixes têm demonstrado maior tolerância específica à presença do gossipol nas suas dietas (Martin, 1990). Em experimento realizado por Roehm et al. (1967), estes concluíram que trutas-arco-íris (*Salmo gairdineri*) podiam ser alimentadas com dietas contendo 250 ppm de gossipol livre/dia, sem que

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 23 de julho de 1998.

Extraído da Tese de Doutorado apresentada pelo primeiro autor à UNESP, Botucatu, SP.

<sup>2</sup> Bióloga, Dr<sup>a</sup>, Dep. de Biologia Animal, UFV, CEP 36571-000 Viçosa, MG.

<sup>3</sup> Zoot., Dr., FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Caixa Postal 560, CEP 18618-000 Botucatu, SP. E-mail: lpezzato@fca.unesp.br

<sup>4</sup> Zoot., Dr<sup>a</sup>, FMVZ, UNESP.

<sup>5</sup> Biólogo, Dr., Dep. de Ciências Biológicas, FC, UNESP, Campus de Bauru, CEP 17033-360, Bauru, SP.

fossem constatados efeitos deletérios. Semelhantes resultados foram obtidos com bagre-do-canal (*Icatulus punctatus*) por Dorsa et al. (1982), quando observaram que estes podem receber até 900 ppm de gossipol livre/dia na dieta sem que sejam verificados efeitos negativos no crescimento.

Demonstrando que algumas espécies são mais tolerantes à presença de gossipol na dieta, Robinson et al. (1984) não observaram efeitos adversos no desempenho da tilápia-aurea (*Oreochromis aureus*) alimentada com níveis de 1.800 ppm de gossipol livre. Entretanto, efeitos deletérios foram observados por Oioli et al. (1992), quando empregaram dietas isoprotéicas (24,0% de proteína bruta) e isocalóricas (3.600 kcal de EB/kg de ração) no arraçoamento de tilápia-do-nylo e concluíram que níveis maiores que 33,3% da fração protéica da dieta, quando substituída pelo farelo de algodão, resultaram em menor ganho de peso além de lesões microscópicas nos rins e fígado, o que caracteriza degeneração, necrose e infiltração peridural. Resultados semelhantes foram obtidos por Barros et al. (1995) trabalhando com semente e farelo de algodão em dietas iniciais para carpa comum. Segundo estes autores, o farelo de algodão pode ser utilizado em níveis de até 24,0%. Entretanto, a semente de algodão descorticada e moída, ao nível de 6%, resultou em lesões macro e microscópicas subletais, menor crescimento, e pior conversão alimentar.

Assim, antes que se possa recomendar a utilização de produtos que contenham gossipol, faz-se necessário conhecer as respostas biológicas e os mecanismos fisiológicos adaptativos dos peixes tropicais ao composto, para que sejam garantidos resultados zootécnicos positivos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inclusão do farelo e da farinha de semente de algodão, no desempenho produtivo e atividade testicular de alevinos de tilápia-do-nylo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi conduzida nos laboratórios de nutrição de peixes do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal (FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu) e do Departamento de Morfologia da Faculdade de Bauru - laboratórios associados ao Centro de Aqüicultura da UNESP.

Foram utilizados 25 aquários de 45 L, com renovação contínua de água (0,25 L/min.), dotados de sistema de alimentação e escoamento por vaso comunicante. Empregou-se um lote de 150 alevinos de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de 1,26 g, numa densidade de seis peixes por aquário. O experimento foi realizado num delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições.

Foram utilizadas rações isoprotéicas, com 28,0% de proteína bruta; e rações isocalóricas, com 4.030 kcal EB/kg de ração (National Research Council, 1993), constituindo tratamentos com 0% (controle), 2%, 4% e 6% de farinha de semente de algodão descorticada e 24% de farelo de algodão, constituindo, respectivamente, os tratamentos 0-SA, 2-SA, 4-SA, 6-SA e 24-FA. Foi utilizado farelo de algodão proveniente da extração com solvente hexano, e a semente descorticada não foi submetida a tratamento. O tratamento 24-FA, se constituiu num controle positivo, em face dos resultados obtidos por Barros et al. (1995).

As rações (Tabela 1) foram processadas para obtenção de pletes de dois diâmetros: 1,0 mm e 3,36 mm, destinados, respectivamente, às fases inicial e final do experimento. As análises químico-bromatológicas dos ingredientes e das rações (Tabelas 2 e 3, respectivamente) foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu, segundo as normas recomendadas pela Association of Official Analytical Chemists (1975).

A temperatura da água dos aquários foi aferida às 8h e 14h. O controle do pH e do teor de oxigênio dissolvido na água foi realizado a cada 15 dias, respectivamente através de peagômetro e pelo método de Winkler modificado pela adição de azida sódica, conforme recomendado por Boyd (1984).

Os peixes foram alimentados *ad libitum*, duas vezes ao dia, imediatamente após a leitura da temperatura da água dos aquários, numa proporção que possibilitou a ingestão máxima sem que ocorressem perdas de ração. Em dias alternados, foi realizada a limpeza dos aquários por meio de sifonagens, para evitar o acúmulo de sobras de ração e fezes. O experimento teve a duração de 120 dias, sendo os peixes pesados no início e ao final, utilizando-se balança com precisão de centésimos de grama. As pesagens eram feitas após um período de 24 horas de jejum. A qualidade nutritiva da farinha de semente e do farelo de algodão foi avaliada pela determinação do ganho de peso dos peixes nos diferentes tratamentos; a comparação entre as médias realizada pela análise de variância de experimentos inteiramente casualizados

**TABELA 1. Composição percentual e características nutritivas das rações experimentais.**

Ingrediente	Tratamento <sup>1</sup>				
	0-SA	2-SA	4-SA	6-SA	24-FA
Premix (vitaminas e minerais)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farinha de peixe	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Amido de milho	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Fubá de milho	38,17	38,50	38,78	39,44	36,06
Farelo de soja	48,16	46,65	45,14	43,56	28,27
Farinha de semente de algodão	-	2,00	4,00	6,00	-
Farelo de algodão	-	-	-	-	24,00
Óleo de soja	0,92	0,70	0,50	-	0,40
Casca de arroz	1,75	1,15	0,58	-	0,27
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Proteína bruta (%)	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00
Fibra bruta (%)	5,48	5,47	5,49	5,50	5,49
Extrato etéreo (%)	3,02	3,58	4,17	4,42	2,33
Energia bruta (kcal/kg de ração)	4012	4030	4052	4058	4039
Cálcio (%)	0,48	0,48	0,48	0,48	0,47
Fósforo (%)	0,27	0,27	0,27	0,28	0,29

<sup>1</sup> 0-SA: 0% de semente de algodão; 2-SA: 2% de semente de algodão; 4-SA: 4% de semente de algodão; 6-SA: 6% de semente de algodão; 24-FA: 24% de farelo de algodão.

**TABELA 2. Composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados para confecção das dietas experimentais<sup>1</sup>.**

Ingrediente	PB (%)	FB (%)	EE (%)	EB <sup>2</sup>	Ca (%)	Pd (%)
Farinha de peixe	57,42	0,22	6,00	4344	6,00	3,00
Amido de milho	0,55	-	0,13	3631	-	-
Fubá de milho	8,61	1,80	3,30	3950	0,02	0,09
Farelo de soja	45,30	6,30	1,10	4187	0,36	0,18
Farinha de semente de algodão	32,90	33,98	38,91	4630	0,30	0,32
Farelo de algodão	38,20	11,60	0,92	4140	0,28	0,26
Óleo de soja	-	-	100,00	9730	-	-

<sup>1</sup> Valores expressos em porcentagem da matéria seca.

<sup>2</sup> Energia bruta (kcal/kg).

**TABELA 3. Análise químico-bromatológica das dietas experimentais.**

Tratamento <sup>1</sup>	PB (%)	FB (%)	EE (%)	EB <sup>2</sup>	Ca (%)	Pd (%)
0-SA	27,60	5,10	3,50	4003	0,50	0,26
2-SA	27,50	5,65	4,01	4015	0,50	0,25
4-SA	27,48	5,75	4,44	3986	0,57	0,25
6-SA	27,82	5,47	4,11	4011	0,55	0,26
24-FA	27,55	5,88	3,88	4022	0,42	0,23

<sup>1</sup> 0-SA: 0% de semente de algodão; 2-SA: 2% de semente de algodão; 4-SA: 4% de semente de algodão; 6-SA: 6% de semente de algodão; 24-FA: 24% de farelo de algodão.

<sup>2</sup> Energia bruta (kcal/kg de ração).

(Banzato & Kronka, 1989), e as conclusões extraídas deste trabalho foram obtidas a 5% de significância estatística.

Aos 60 dias, os peixes de uma das cinco repetições, e, aos 120 dias, todos os peixes, foram sacrificados e destinados para estudos histológicos. Os testículos foram fixados com Bouin, e incluídos em parafina. Corte de 7  $\mu$ m foram corados com hematoxilina/eosina (H/E) de acordo com metodologia recomendada por Luna (1968). Para caracterização da atividade testicular foi realizado diagnóstico do estágio de maturação gonadal de acordo com os tipos de células germinativas presentes nas gônadas, como proposto por Alexandrino et al. (1985), Gonçalves (1993) e Narahara (1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ganho de peso

A temperatura média da água de todo o período experimental foi de 21°C e 22°C, respectivamente para os períodos da manhã e tarde, cujas oscilações registradas podem ser consideradas pequenas, tanto no período matutino (mínima de 19,5°C e máxima de 23°C), como no período vespertino (mínima de 20°C e máxima de 24°C). Desta forma, a temperatura da água não deve ter influenciado o desempenho dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos, pois manteve-se na faixa térmica de conforto para a espécie, segundo Castagnolli & Cyrino (1986). O mesmo foi observado para a concentração de oxigênio dissolvido (5,0 mg/L) e com o pH (6,5).

Os valores médios de ganho de peso (gramas) aos 120 dias experimentais estão apresentados na Tabela 4. A análise de variância de experimentos inteiramente casualizados (teste F) não revelou diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos (CV=18,2%).

A literatura demonstra a existência de limites para a presença desses produtos nas dietas dos peixes. Os resultados obtidos com o bagre-do-canal por Robinette (1981), e com o salmão por Fowler (1980), limitam o uso do farelo de algodão a 20,0% e 22,0%, respectivamente, e Martin (1990) alerta para o efeito antinutricional do gossipol nos peixes. No presente estudo, a não-deteção de diferenças estatísticas significativas entre tratamentos está de acordo com os resultados obtidos com a tilápia-aurea por Robinson et al. (1984), enquanto Oioli et al. (1992), demonstraram a possibilidade de se empregarem na dieta níveis de farelo de algodão de até 33,33%, sem prejudicar o ganho de peso de tilápia-do-nylo.

A aparente alta capacidade da tilápia-do-nylo em receber dietas contendo gossipol, aqui demonstrada, confirma a afirmação feita por Jauncey & Ross (1982), sobre o potencial de emprego do algodão como fonte protéica em dietas para a espécie.

Esses resultados confirmam ainda a tese de que os peixes podem ser alimentados com dietas contendo níveis de gossipol superiores aos níveis dos demais monogástricos, como anteriormente demonstrado por Dorsa et al. (1982), que alimentaram alevinos de bagre-do-canal com dietas contendo 900 ppm de gossipol livre/dia sem que o ganho de peso da espécie fosse afetado significativamente, e,

**TABELA 4. Valores médios de ganho de peso (gramas) de alevinos de tilápia-do-nylo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de farinha de semente de algodão e farelo de algodão.**

Repetição	Tratamento <sup>1</sup>				
	0-SA	2-SA	4-SA	6-SA	24-FA
1	6,510	8,072	4,435	5,385	6,756
2	6,548	6,890	4,453	6,878	8,365
3	7,501	6,360	7,220	5,805	7,205
4	8,386	5,119	7,200	6,788	6,555
Média	7,236	6,610	5,827	6,214	7,220

<sup>1</sup> 0-SA: 0% de semente de algodão; 2-SA: 2% de semente de algodão; 4-SA: 4% de semente de algodão; 6-SA: 6% de semente de algodão; 24-FA: 24% de farelo de algodão.

ainda, por Roehm et al. (1967), que estabeleceram a possibilidade de empregar 34,0% de farelo de algodão em dietas de truta-arco-íris.

### Análise microscópica das gônadas

A análise microscópica dos testículos dos peixes do grupo-controle (60 dias) revelou fase adiantada do processo de maturação. Foi observada proliferação celular em todas as fases do processo de espermatogênese, destacando-se espermatozóides livres no lume tubular e ducto testicular (Figs. 1 e 2). Nas gônadas observou-se um dinamismo no processo de espermatogênese, conforme descrito por Silva (1987) na mesma espécie estudada no presente trabalho.

A análise microscópica dos testículos dos alevinos que receberam o tratamento 2-SA revela grande número de espermatogônias, e, no seu interior, cistos de espermatócitos primários e um número muito reduzido de espermátides redondas. Quando comparados ao grupo-controle, não foram encontrados cistos de espermatozóides, e tampouco esperma-

tozóides livres na luz tubular (Fig. 3). Assim sendo, observa-se que este grupo apresentava-se em fase inicial de maturação gonadal. Uma explicação para o quadro acima está baseada nos resultados obtidos em mamíferos por Randel et al. (1990), que verificaram imotilidade e diminuição do número de espermatozóides e danos ao epitélio germinativo, acarretando uma redução do processo de espermatogênese. Tais problemas reprodutivos foram atribuídos por Chase et al. (1990) à degeneração do tecido do parênquima testicular.

Não foram realizadas análises de gônadas aos 60 dias em relação aos peixes do tratamento 4-SA, porque todos os indivíduos sorteados para análise eram fêmeas. As análises dos peixes do tratamento 6-SA revelaram gônadas com cistos de espermatozóides, mas não foram encontrados espermatozóides livres no lume tubular (Fig. 4). Essa característica, conforme descrito por Alexandrino et al. (1985), indicou que os peixes se encontravam em fase intermediária de maturação. Desta forma, podemos inferir que os peixes alimentados com ração 6-SA apre-

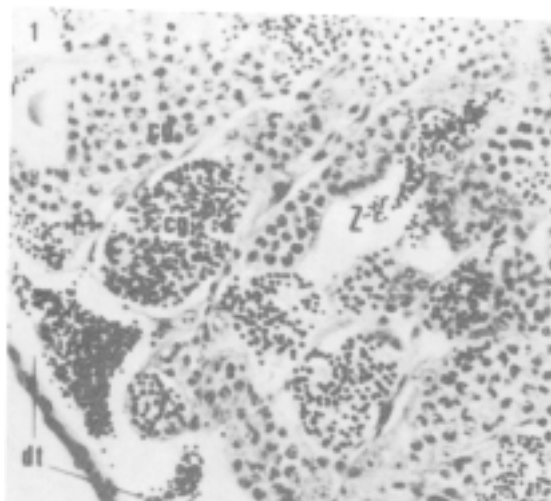


FIG. 1. Corte histológico de testículo de *Oreochromis niloticus* (grupo-controle - 60 dias) durante o processo de espermatogênese. São observados cistos de células germinativas (cg) e espermatozóides livres no lume tubular (z) e no ducto testicular (dt), (H/E, 200X).

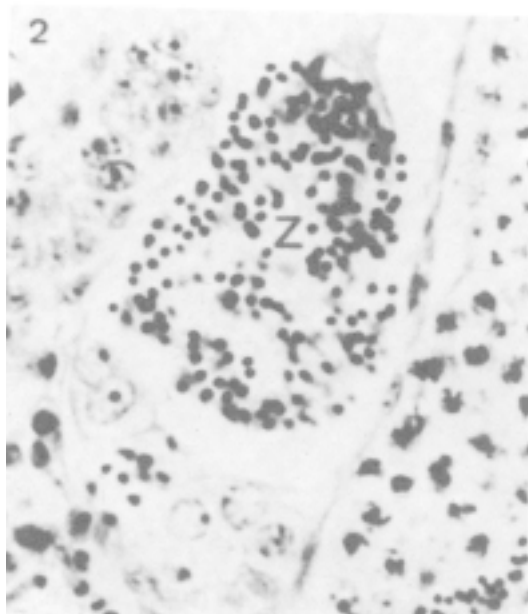
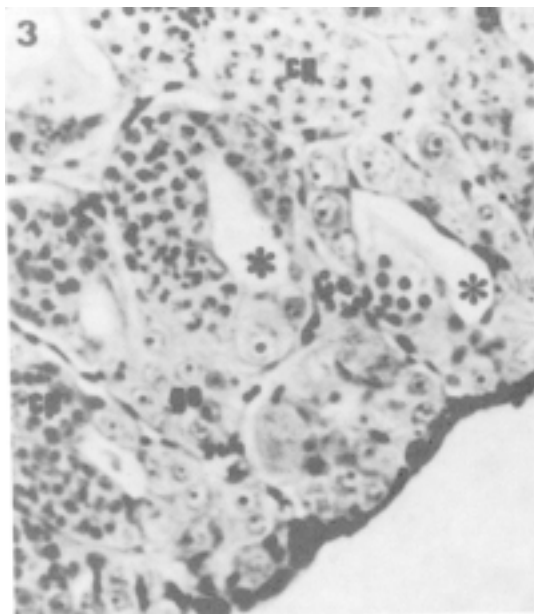


FIG. 2. Detalhe de túbulos seminíferos (grupo-controle - 60 dias) apresentando espermatozóides livres (z) na luz tubular (H/E, 400X).

sentaram atraso no processo de maturação gonadal, quando comparados aos alimentados com a ração controle.

A análise microscópica dos testículos dos peixes do tratamento 24-FA mostrou a presença de cistos de espermatozóides e poucos túbulos com espermatozóides livres na luz tubular. Diante desses resultados, podemos inferir que o tratamento 24-FA teve ação semelhante à do tratamento 6-SA, porém de forma menos acentuada.

Aos 120 dias de experimento, observou-se que os testículos dos peixes do tratamento 0-SA encontravam-se com células germinativas que caracterizam a fase adiantada de maturação com cistos de espermatozóides e espermatozóides livres na luz. Com base nos resultados obtidos aos 120 dias, comparados aos observados aos 60 dias, pode-se sugerir que um novo ciclo de maturação estivesse ocorrendo, confirmando o descrito por Van Tienhoven (1983) em teleósteos, e Silva (1987) como característica normal quanto à tilápia-do-nilo.

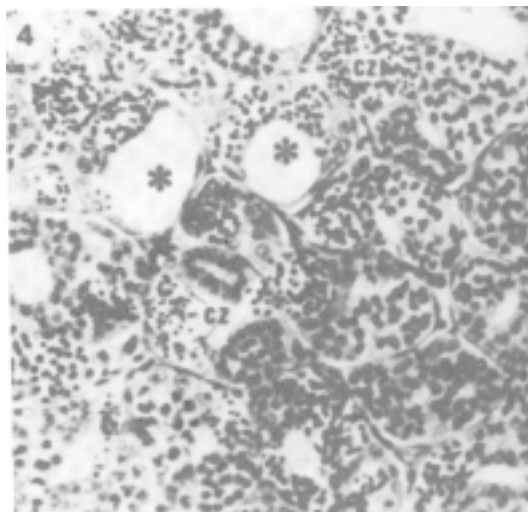


**FIG. 3.** Testículo de alevinos (2-SA - 60 dias), com espermatogônias (go) na periferia tubular, cistos de espermatócitos primários (cp) e ausência de espermatozóides livres na luz tubular (asteriscos), (H/E, 200X).

As gônadas dos peixes arraçados com dietas contendo 2% de semente de algodão apresentaram-se, aos 120 dias, semelhantes às do grupo-controle aos 60 dias, sendo observados cistos de espermatozóides, espermatozóides livres no lume e no ducto testicular (Fig. 5). Assim, verificou-se que o tratamento 2-SA atrasou em 60 dias a maturação sexual nos machos. Embora não existam outros resultados com peixes, estes confirmam os obtidos com outras espécies de animais, conforme Randel et al. (1990, 1992).

O mesmo pode ser observado com os peixes do tratamento 4-SA, que apresentaram maturação gonadal ainda mais atrasada que os peixes do tratamento 2-SA. Aos 120 dias, pôde-se apenas observar cistos de espermatozóides, poucos espermatozóides no lume e muitas espermatogônias na periferia. Cabe destacar que os peixes submetidos a esse tratamento não apresentavam espermatozóides no ducto testicular, o que reforça a hipótese de que a presença de gossipol na dieta afeta negativamente a maturação gonadal.

Observações semelhantes revelaram efeitos ainda mais acentuados nos testículos dos peixes submetidos ao tratamento 6-SA, onde foram observa-



**FIG. 4.** Testículo de alevinos (6-SA - 60 dias), destacando cistos de espermatozóides (cz) e ausência de espermatozóides livres na luz tubular (asteriscos), (H/E, 200X).

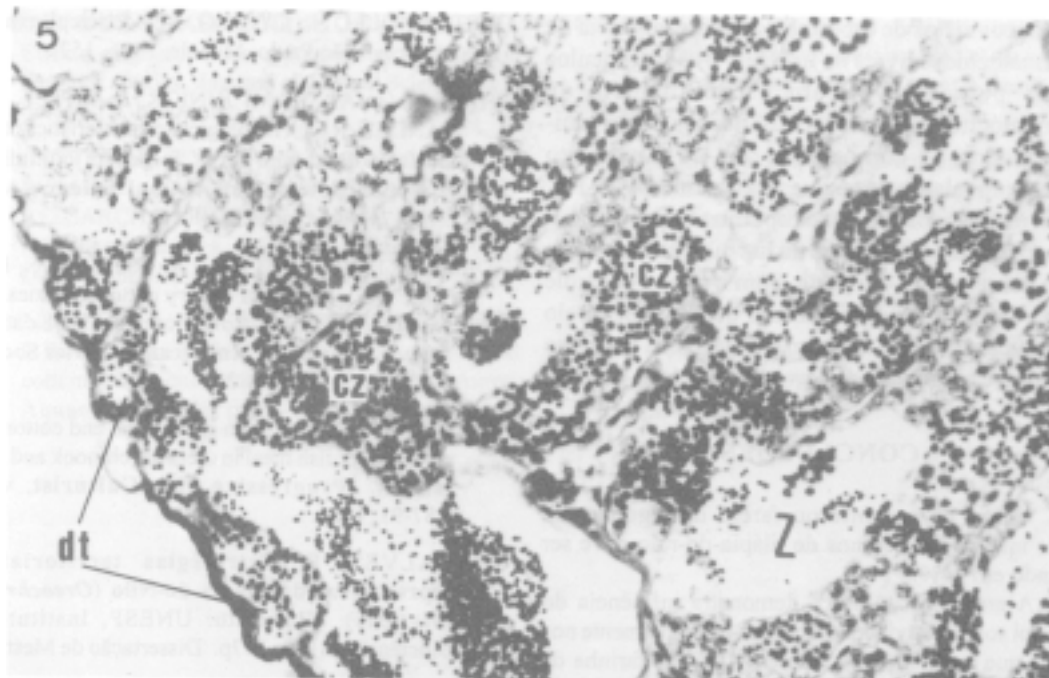


FIG. 5. Testículo de alevinos (2-SA - 120 dias), apresentando cistos de espermatozóides (cz), espermatozóides livres situados no lume tubular (z) e no interior do ducto testicular (dt), (H/E, 200X).

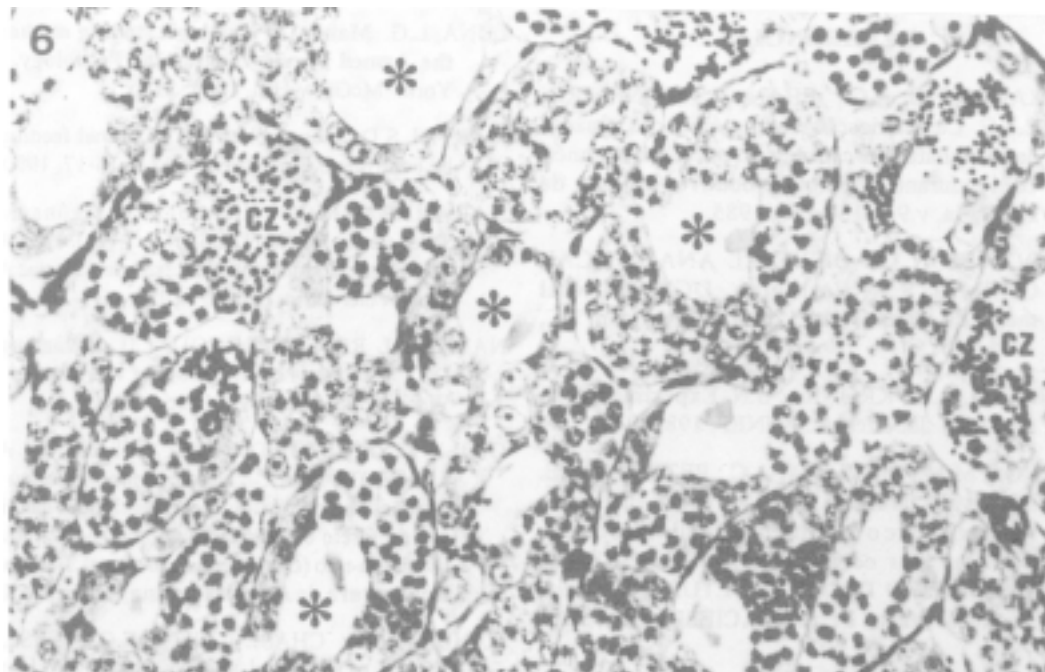


FIG. 6. Testículo de alevinos (6-SA - 120 dias). Observar cistos de espermatozóides (cz) e ausência de espermatozóides livres na luz tubular (asteriscos), (H/E, 200X).

dos poucos cistos de espermatozóides e ausência de espermatozóides livres na luz (Fig. 6). Os testículos desses peixes revelaram predominância de espermátocitos primários, classificados como muito atrasados, se comparados aos do tratamento 0-SA. Com relação aos peixes do tratamento 24-FA, foram observados cistos de espermatozóides e poucos espermatozóides livres na luz tubular. Tal situação é comparável, em parte, com o grupo-controle aos 60 dias, o que permite inferir que 24% de farelo de algodão na dieta também influencia o processo de maturação gonadal de alevinos de tilápia-do-nylo.

## CONCLUSÕES

1. O uso de semente ou farelo de algodão em dietas iniciais de alevinos de tilápia-do-nylo deve ser limitado em 24%.

2. A análise histológica demonstra influência do gossypol sobre a atividade testicular, principalmente nos peixes que recebem dieta contendo 6% de farinha de semente de algodão, quando, então, a atividade espermatogênica é menor, o que pode comprometer o desempenho reprodutivo dos peixes.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDRINO, A.C.; PHAN, N.T.; PINHEIRO, E.F.G. Caracterização macroscópica das gônadas de curimbatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), durante o ciclo reprodutivo. **Boletim de Zoologia**, v.9, p.159-175, 1985.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (Washington, DC). **Official methods of analysis**. 12.ed. Washington, DC, 1975. 1015p.
- BANZATO, A.B.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247p.
- BARROS, M.M.; SILVEIRA, A.C.; PEZZATO, L.E. Efeitos do farelo de algodão, como sucedâneo protéico, sobre o desempenho de alevinos de carpa (*Cyprinus carpio*, L). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1995, Peruíbe. **Anais...** Peruíbe: ACIESP, 1995. p.23-29.
- BOYD, C.E. **Water quality in warmwater fish ponds**. 3.ed. Auburn: Auburn Univ., 1984. 359p.
- CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J.E. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo: Manole, 1986. 152p.
- CHASE, C.C.; ARSHAMI JUNIOR, J.; RUTLE, J.L.; RANDEL, R.D. Histological characteristics of testes from Brahman bulls fed diets containing gossypol. **Journal of Animal Science**, v.68, p.14-17, 1990. Suppl.1.
- DORSA, W.J.; ROBINETTE, H.R.; ROBINSON, E.H.; POE, W.E. Effects of dietary cottonseed meal and gossypol on growth of young channel catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.111, p.651-655, 1982.
- FOWLER, L.G. Substitution of soybean and cottonseed products for fish meal in diets fed chinook and coho salmon. **Progressive Fish Culturist**, v.42, p.87-91, 1980.
- GONÇALVES, E. **Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 1993. 147p. Dissertação de Mestrado.
- JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feed and feeding**. Stirling: Institute of Agricultural Univ. of Stirling, 1982. 101p.
- LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.
- MARTIN, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. **Feedstuffs**, v.62, p.14-17, 1990.
- NARAHARA, M.Y. Histologia das gônadas de Teleósteos. In: SANTOS, H.S. (Ed.). **Histologia de peixes**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, FUNEP, 1995. p.11-25.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (Washington, DC). **Nutrient requirements of warmwater fish**. Washington, DC, 1993. 102p.
- OIOLI, K.V.; PEZZATO, L.E.; SILVEIRA, A.C.; LUVIZOTTO, M.C. Desempenho produtivo e alterações anatomopatológicas, resultantes da utilização do farelo de algodão na alimentação inicial da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Boletim Red Acuicultura de America Latina**, v.6, p.7-9, 1992.
- RANDEL, R.D.; CHASE JUNIOR, C.C.; WYSE, S.J. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1628-1638, 1992.



- RANDEL, R.D.; CHASE JUNIOR, C.C.; WYSE, S.J. Effects of gossypol on reproduction in domestic livestock species. **Journal of Animal Science**, v.68, p.405-412, 1990. suppl.1.
- ROBINETTE, H.R. Use of cottonseed meal in catfish feeds. In: CATFISH FARMER AMERICAN RESEARCH WORKSHOP, 3., 1981, Washington, DC. **Proceedings...** Washington, DC: U.S. Department of the Interior, 1981. p.26-32.
- ROBINSON, E.H.; RAWLES, S.D.; OLDENBURG, P.W. Effects of feeding glandless or glanded cottonseed products and gossypol to tilapia Aurea. **Aquaculture**, v.38, p.145-154, 1984.
- ROEHM, J.M.; LEE, D.J.; SINNHUBER, R.O. Accumulation and elimination of dietary gossypol in the organs of rainbow trout. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.92, p.425-428, 1967.
- SILVA, M. **Morfologia ultra-estrutural do testículo, cinética da espermatogênese e barreira hemato-testicular da tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*. (Peixes, Ciclideo)**. Belo Horizonte: UFMG, Instituto de Ciências Biológicas, 1987. 164p. Tese de Doutorado.
- VAN TIENHOVEN, A. **Reproductive physiology of vertebrates**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1983. 491p.