

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA REVERSÃO SEXUAL EM TILÁPIA DO NILO,
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757).**

JULIO HERMANN LEONHARDT
Médico Veterinário

JABOTICABAL - SP
1997

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA REVERSÃO SEXUAL EM TILÁPIA DO NILO,
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757).**

Autor: JULIO HERMANN LEONHARDT

Orientadora: Prof. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura, Campus de Jaboticabal - UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura, Área de Concentração em Aquicultura.

Jaboticabal - SP

1997

À Creusa

Hermann e Beatryz

dedico este trabalho.

Aos meus pais

Arthur (in memoriam)

e

Littia

ofereço.

A persistência é irmã gêmea da excelência. Uma é questão de qualidade; a outra, questão de tempo.

Marabel Morgan

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por toda a força e fé de me fazer acreditar que um dia eu seria capaz de realizar este trabalho.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dr. Elisabeth Criscuolo Urbinati pela orientação, profissionalismo, objetividade, dedicação e sobretudo amizade.

Por se tratar de uma tarefa difícil, e na tentativa de não correr o risco de esquecer de um amigo, colega de sala, técnico de laboratório, professor, funcionário, estagiário, aluno e outros, gostaria de agradecer conjuntamente a todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram com trabalho, idéias, informações, correções e opiniões.

Acreditando poder retribuir a alguém, de alguma forma, com alguma coisa, toda a ajuda recebida, no momento posso dizer: muito obrigado.

ÍNDICE

	PÁGINA
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	5
2.1. Biologia.....	5
2.2. Reversão sexual.....	9
2.3. Citogenética.....	15
2.4. Fisiologia.....	16
2.5. Composição corporal.....	19
2.6. Mercado consumidor.....	21
3. Material e Métodos.....	24
3.1. Local e Instalações.....	24
3.2. Cultivo dos peixes (primeira etapa experimental).....	25
3.3. Cultivo dos peixes (segunda etapa experimental).....	37
3.4. Análises citogenética, morfológica, metabólica, hormonal e de composição corporal (segunda etapa experimental).....	38
3.5. Análise Estatística.....	46
4. Resultados e Discussão.....	48
4.1. Primeira etapa (reversão, alevinagem, cultivo de juvenis e engorda).....	48
4.2. Segunda etapa.....	76
4.2.1. Análise Citogenética.....	76
4.2.2. Análise Morfológica.....	81
4.2.3. Análise Metabólica.....	92
4.2.4. Análise Hormonal.....	96
4.2.5. Análise de Composição corporal.....	102
5. Conclusões.....	107
6. Summary.....	109
7. Referências Bibliográficas.....	111

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
1. Vista do viveiro de matrizes.....	27
2. Vista de tanques redes de cultivo de larvas na reversão sexual.....	27
3. Vista de tanques redes de cultivo dos juvenis e engorda.....	35
4. Exemplar de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> em fase final de engorda.....	35
5. Incremento médio de peso e comprimento na reversão sexual.....	54
6. Incremento médio de peso e comprimento na alevinagem.....	55
7. Incremento médio de peso e comprimento no cultivo de juvenis.....	61
8. Incremento médio de peso e comprimento na engorda.....	62
9. Valores médios mensais de temperatura (°C) da água e do ar.....	68
10. Fatores de condição alométrico médio para as 4 fases experimentais.....	74
11. Valores médios das diferenças entre os cromossomos.....	78
12. Valores médios dos índices gonado-somáticos.....	83
13. Valores médios dos índices hepato-somáticos.....	85
14. Valores médios dos índices hipófise-somáticos.....	86
15. Valores médios das correlações entre a área da PPD/ área da hipófise.....	87
16. Valores médios da área do citoplasma e núcleo do hepatócito.....	91
17. Valores médios do volume do citoplasma e núcleo do hepatócito.....	91
18. Valores médios dos níveis de glicose plasmática.....	94
19. Valores médios dos níveis de proteína plasmática.....	94
20. Valores médios do glicogênio hepático e do lipídeo hepático.....	95
21. Valores médios dos níveis de testosterona plasmática.....	98
22. Valores médios dos níveis de 17- α -hidroxiprogesterona plasmática.....	99
23. Valores médios dos níveis de estradiol plasmático.....	100
24. Valores médios da matéria seca e proteína na carcaça.....	104
25. Valores médios do extrato etéreo e de cinzas na carcaça.....	104

LISTA DE TABELAS

	PÁGINA
1. Níveis de garantia, composição básica, eventuais substitutos e enriquecimento por kg do produto para a ração Pirá Tropical Crescimento.....	26
2. Duração do ciclo de reprodução em função da temperatura média da água do viveiro.....	28
3. Níveis de garantia, composição básica, eventuais substitutos e enriquecimento por kg do produto para a ração Pirá Tropical Inicial.....	30
4. Diâmetros de pellet recomendados para a tilápia.....	32
5. Tabela de alimentação diária para tilápias.....	32
6. Taxa de alimentação diária e número de refeições ofertadas para tilápias de diferentes pesos e em diferentes temperaturas.....	33
7. Fases experimentais, biometrias, datas, peso e comprimento médio dos grupos controle, peso e comprimento médio dos grupos revertido.....	49
8. Fases experimentais, tanques rede, grupos experimentais e incrementos de peso e comprimento.....	51
9. Fases experimentais, dias de cultivo, grupos de peixes, pesos e comprimentos iniciais e finais, incrementos diários de peso e de comprimento.....	63
10. Fases experimentais, datas, grupos de peixes, população de peixes inicial, população de peixes final e taxas de mortalidade.....	69
11. Fases experimentais, grupos de peixes, constante b, fator de condição alométrico, relações peso total/ comprimento total.....	73
12. Fases experimentais, biometrias e fatores de condição para o grupos controle e revertido.....	75
13. Valores médios dos cromossomos do provável par sexual, índice gonado-somático, índice hepato-somático, índice hipófise-somático, correlação área da PPD/ área da hipófise.....	77
14. Análises morfométricas dos hepatócitos.....	90
15. Glicose plasmática, proteína plasmática, glicogênio e lipídeo hepático.....	93
16. Testosterona, progesterona e estradiol plasmático.....	97
17. Análise de composição corporal.....	103

RESUMO

A finalidade do presente trabalho foi realizar estudos citogenético, morfológico, metabólico, hormonal, composição corporal e produção aquícola em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* revertida sexualmente. Em uma primeira etapa, estudou-se o desempenho produtivo das tilápias. Tilápias sexo revertidas foram comparadas com tilápias machos e fêmeas durante as fases de reversão, alevinagem e cultivo de juvenis e com tilápias sexadas na fase de engorda. As larvas, ao início da fase de reversão, apresentavam comprimento inferior a 11 mm e foram alimentadas por 28 dias com uma dieta contendo o hormônio 17- α -metiltestosterona, na dose de 60 mg/ kg de ração. A análise histológica das gônadas revelou uma taxa de reversão para machos de 93,33 %. O hormônio, 17- α -metiltestosterona, incorporado à dieta, não resultou em aumento de taxa de mortalidade que durante as fases de reversão, alevinagem, cultivo de juvenis e engorda foi baixa e variou de 2,5 % a 10,2 %. O incremento em peso e comprimento dos peixes revertidos sexualmente, apesar de não ser estatisticamente significativo, foi superior ao do grupo controle nas 4 fases. Durante a fase de reversão sexual o grupo experimental apresentou maior incremento de peso do que de comprimento (b: 2,98) quando comparado ao grupo controle (b: 3,69). Os resultados obtidos de fator de condição alométrico sugerem que o estado fisiológico do

grupo controle foi similar ao revertido. Na segunda etapa da pesquisa foram comparadas tilápias do Nilo, machos e fêmeas em reprodução com tilápias revertidas sexualmente em fase final de engorda. Através da análise das metáfases mitóticas foi possível a adoção de um método capaz de identificar o sexo genotípico das tilápias sexo revertidas. Foram identificados o grupo macho controle (MC), o grupo fêmea controle (FC), o grupo macho que após o tratamento hormonal se mantém macho (MM) e o grupo fêmea revertida para macho (FM). O grupo FC apresentou índice hepato-somático (IHS), área e volume do citoplasma do hepatócito, lipídeo hepático e extrato etéreo na carcaça inferiores aos três outros grupos e índice gonado-somático (IGS), índice hipófise-somático (IHipS) e correlação área PPD/ área da hipófise maiores. Esses dados sugerem uma mobilização intensa de reservas energéticas em função do desenvolvimento gonadal. O grupo MM apresentou IHipS estatisticamente superior ao grupo FM, sugerindo um desenvolvimento hipofisário diferenciado para os dois grupos e provavelmente dependente do sexo genotípico. Resultados similares de IGS, IHS, área PPD/ área da hipófise, morfometria hepática, glicose e proteína plasmática, glicogênio e lipídeo hepático, testosterona, progesterona e estradiol plasmáticos, teor de água, proteína, extrato etéreo e cinzas na carcaça para os grupos MM e FM sugerem comportamento metabólico e endócrino semelhante para os dois grupos, após o uso do hormônio masculinizante. Os grupos MC e FC apresentaram níveis de glicogênio hepático similares, mas inferiores aos obtidos para MM e FM, indicando mobilização de energia nos peixes envolvidos com a atividade reprodutiva. As tilápias sexo revertidas apresentaram maior teor de água e gordura na carcaça quando comparado aos peixes machos e fêmeas. Os peixes revertidos sexualmente apresentaram alterações anatômicas e metabólicas que refletem positivamente sobre o crescimento dos mesmos.

1. INTRODUÇÃO

Em países tropicais e subtropicais, a cultura de peixes em tanques e viveiros tem adquirido grande importância econômica como fonte alternativa de proteína animal para o consumo humano. Neste aspecto, os ciclídeos da sub-família *Tilapiinae*, na qual se inclui a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, são explorados de forma intensiva.

Passados muitos anos desde que foi introduzida no Brasil, e após ser confirmada como o maior fracasso da nossa piscicultura nas últimas décadas, indesejável e até considerada uma praga, a tilápia reapareceu nos viveiros brasileiros, bem como em dezenas de outros países, embalada por novas tecnologias, manejos e sofisticadas seleções genéticas capazes de estimular seus atuais criadores, fazendo crer que não estavam totalmente errados, os que acreditavam que a tilápia seria capaz de revolucionar, um dia, a piscicultura brasileira e mundial (CARVALHO FILHO, 1995a).

A tilápia tem sido intensamente utilizada na piscicultura mundial e está hoje entre as espécies mais indicadas para o cultivo intensivo em regiões tropicais. Apresenta ótimas qualidades para a produção piscícola, podendo ser destacadas: curto ciclo de produção, rápido crescimento, rusticidade, tolerância a ambientes superpovoados, consumo de

alimento natural, consumo de rações balanceadas e resíduos agropecuários de origem animal e vegetal, ótima qualidade de carne, ausência de mioespinhas, facilidade de filetagem e industrialização da carcaça, boa aceitação do filé no mercado consumidor e resistência ao manejo e às doenças.

Todas estas habilidades da tilápia do Nilo deparam-se com um problema, que é a alta capacidade de reprodução devida à maturação sexual precoce, sendo classificada como de espécie de estratégia R, ou seja, fecundidade elevada, postura freqüente de ovócitos, baixa competição intraespecífica e, por conseqüência, reprodução excessiva, superpopulação e crescimento lento.

Várias formas de cultivo têm sido feitas para solucionar os problemas da reprodução excessiva da tilápia. Dentre elas, podemos citar: consorciação da tilápia com carnívoro predador, sexagem individual de machos e fêmeas, através das diferenças na papila urogenital, cultivo de machos híbridos através do cruzamento entre machos de *Oreochromis hornorum* e fêmeas de *Oreochromis niloticus* e obtenção de linhagens monosexuais masculinas, através do tratamento de larvas com hormônios masculinizantes.

O desenvolvimento e a intensificação da piscicultura são dependentes do sucesso no controle e manipulação de algumas funções fisiológicas e, dentre elas, a reprodução. Nos últimos 15 anos, os esforços de pesquisa têm se voltado para a procura de métodos confiáveis de produção de progênes de indivíduos de um determinado sexo. Várias são as opções para se conseguir isto, incluindo os métodos genéticos, os não genéticos ou mesmo a combinação entre eles.

A técnica mais prática de se obter populações monosexo de tilápias é a manipulação do sexo fenotípico do peixe, pelo tratamento com esteróides sexuais, e esta técnica da reversão sexual passou a ser encarada como a grande solução para o problema da

superpopulação da tilápia do Nilo, embora encontre resistência do consumidor quanto ao produto final, custo e reversão incompleta.

O percentual de machos fenotípicos após tratamento hormonal de reversão sexual freqüentemente fica acima de 95%, mas ocasionalmente podem ocorrer percentuais de 80 a 90%. As razões para essas ocasionais reduções na taxa de reversão ainda não estão claramente entendidas, mas o tamanho/ idade adequados para o início do tratamento, bem como crescimento muito acelerado são causas prováveis. O crescimento rápido, resultado de uma combinação de alta temperatura e boa qualidade da ração, pode induzir a larva a passar muito rapidamente pela estreita janela da susceptibilidade da reversão sexual.

Vários pesquisadores afirmam que populações de tilápia do Nilo machos monossexuais revertidas apresentam maior crescimento e ganho de peso quando comparados a grupos não revertidos. Por outro lado, outros autores afirmam que a reversão sexual não interfere no crescimento e ganho de peso dos peixes. PANDIAN & SHEELA (1995) relacionaram 15 trabalhos em que os peixes sexo revertidos apresentaram maior crescimento e 6 trabalhos em que as taxas de crescimento foram negativas. Nesta revisão, a maior parte dos trabalhos relacionados à reversão sexual se preocuparam com o sucesso ou fracasso dos métodos utilizados sem uma adequada atenção à taxas de sobrevivência, crescimento e reprodução de peixes hormônio sexo revertidos. A técnica de reversão sexual tem sido praticada pelo empresariado aquícola em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento e, aparentemente, os benefícios da reversão sexual superam as desvantagens. Para estes autores, os benefícios econômicos da reversão sexual tem sido o principal suporte para o prosseguimento das pesquisas nesta área.

Embora a administração de esteróides naturais ou sintéticos, em peixes em crescimento, resultem em aumentos na taxa de crescimento e/ ou reversão sexual, são

poucos os trabalhos que abordam os mecanismos pelos quais os esteróides influenciam a diferenciação sexual na tilápia. Segundo HINES & WATTS (1997), o conhecimento das bases fisiológicas do processo pode auxiliar produtores e agentes governamentais nas decisões sobre o uso de hormônios na reversão sexual em tilápia.

O presente trabalho teve como objetivo, em uma primeira etapa, avaliar o desempenho produtivo de tilápias revertidas sexualmente cultivadas em tanques rede, e em uma segunda etapa, realizar estudos citogenético, morfológico, metabólico, hormonal e de composição corporal comparativos de uma população de tilápias do Nilo machos e fêmeas, em reprodução, com uma população de tilápias do Nilo revertidas, em fase final de engorda.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIOLOGIA

Tilápia é a designação genérica de um grupo de peixes que abrange cerca de 70 espécies, pertencentes a 4 gêneros: *Oreochromis*, *Sarotherodon*, *Tilápia* e *Danakillia*, todos pertencentes à Família Cichlidae, subfamília Tilapiinae, tribo Tilapiini.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), as tilápias de importância comercial estão divididas em três principais grupos taxonômicos, distinguidos basicamente pelo comportamento reprodutivo. São eles as do gênero *Tilápia spp* (incubam seus ovos em substratos), *Oreochromis spp* (incubam os ovos na boca da fêmea) e *Sarotherodon spp* (incubam os ovos na boca do macho ou de ambos).

De acordo com estes dois pesquisadores, essa classificação taxonômica é recente. Há vinte anos atrás, todas as tilápias de importância comercial eram agrupadas num único gênero: *Tilápia*. Na metade da década de 70, entretanto, as espécies que incubavam seus ovos na boca foram separadas daquelas que incubavam seus ovos externamente e foram classificadas como sendo todas do gênero *Sarotherodon*. Mais recentemente, em 1983, as

espécies do gênero *Sarotherodon* foram novamente divididas, separando as espécies que incubam os ovos na boca da fêmea sob o gênero *Oreochromis*. Desta forma, a tilápia do Nilo, uma espécie de grande importância para a aquicultura, hoje classificada como *Oreochromis niloticus*, será encontrada na literatura do final da década de 70 e início da de 80 como sendo *Sarotherodon niloticus* e, anteriormente a isso, como sendo da espécie *Tilápia do Nilo*.

A área de distribuição geográfica natural da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é o Leste Africano (bacia do rio Nilo), o Congo e o Oeste Africano (bacias dos rios Níger e Senegal), sendo, a partir daí, disseminada pelo homem para Israel, Sudoeste Asiático (Indonésia, Filipinas, Formosa), para o EUA (Alabama e Flórida) e, ainda, para a América do Sul (Brasil, México e Panamá) (BALARIN & HATTON, 1979).

A tilápia do Nilo foi introduzida no Brasil pelo Estado do Ceará, através do D.N.O.C.S. (Departamento Nacional de Obras Contra a Seca), em Pentecostes, em 1971, procedente da Costa do Marfim, África. Recebeu a denominação de tilápia do Nilo por ser oriunda da bacia deste grande rio africano. É um peixe facilmente reconhecido por apresentar listras verticais na nadadeira caudal, coloração metálica, corpo curto e alto, cabeça e cauda pequenas e, quando alevinos, um colorido metálico em tom verde-azulado na cabeça (GALLI & TORLONI, 1986).

Segundo LUND & FIGUEIRA (1989), a tilápia do Nilo é uma espécie que apresenta escamas grandes, pouco brilhantes, nítidas listras verticais na nadadeira caudal e ainda manchas esbranquiçadas no ventre e coloração prateada no dorso. Ela é típica de ambiente tropical, adaptando-se melhor em clima onde a temperatura varie entre 18 °C e 28 °C. Temperaturas abaixo de 12 °C e acima de 42 °C são letais. A desova é estimulada entre 22 °C e 24 °C. Segundo CASTAGNOLLI (1992), o melhor desempenho da tilápia é obtido

com a temperatura da água entre 26°C e 28 °C e, quando esta é inferior a 15 °C, pouco se alimenta e não se reproduz.

As tilápias ingerem uma grande variedade de alimentos naturais, incluindo plâncton, folhas verdes suculentas, organismos bênticos, invertebrados aquáticos, larvas de peixes, detritos e matéria orgânica em decomposição. Mesmo em viveiros com alimentação suplementar adequada, os organismos naturais são responsáveis por 30 a 50 % do crescimento dos peixes (POPMA & LOVSHIN, 1996). As tilápias são com frequência considerados peixes filtradores porque podem capturar eficientemente organismos planctônicos. Entretanto, filtradores não é exatamente um termo correto, porque as tilápias fisicamente não filtram a água através dos arcos branquiais como a carpa capim ou a carpa cabeça grande. Nas tilápias, as brânquias secretam um muco no qual se aderem os organismos planctônicos e o bolo, rico em plâncton, é então ingerido. Este mecanismo permite a tilápia capturar micro-fitoplânctons menores que 5 micrômetros de diâmetro.

Na natureza, a tilápia do Nilo chega à sua primeira maturação sexual a partir de 20 cm. Já em cativeiro pode atingi-la com quatro a cinco meses, com 10 a 17 cm de comprimento. Uma fêmea pode pôr 1.500 a 2.000 ovos por vez, desovando pelo menos três vezes ao ano. Em locais de clima quente, reproduzem-se o ano todo, e, se a temperatura ultrapassar 24 °C, o intervalo entre duas desovas consecutivas pode ser de 28 dias. Uma característica da reprodução desta espécie é o fato de a fêmea incubar os ovos na boca, onde permanecem por sete a oito dias, só saindo após a absorção do saco vitelino, o que dá melhor proteção à prole. Este fato, aliado à precocidade sexual e a característica de se reproduzirem durante todo o ano em locais de temperatura alta, garante uma grande disponibilidade de alevinos desta espécie para o cultivo (LUND & FIGUEIRA, 1989).

PROENÇA & BITTENCOURT (1994) colocam que o fator mais limitante para o cultivo das tilápias é a sua capacidade de se reproduzir em cativeiro. Em torno de 50 g, podem iniciar sua vida reprodutiva, desviando elementos plásticos (proteínas) e energéticos (lipídios e carboidratos) para a reprodução em detrimento do crescimento. Desovam naturalmente à temperaturas superiores a 20°C, a cada 50 ou 60 dias. De acordo com o seu tamanho, cada fêmea pode gerar de 100 a 500 alevinos, prejudicando a produção final por competição por alimento e oxigênio e consequente heterogeneidade da população. Estes fatores tornam esta estratégia de produção inaceitável comercialmente, agravada ainda pelo fato de que ao final, o peso das fêmeas representa de 50 a 70 % o peso dos machos.

Para VINATÉIA (1995), o cultivo da tilápia do Nilo não é complicado e nem requer instalações sofisticadas ou caras, sendo assim, se reproduz e se adapta com facilidade em vários tipos de água: salobras, doces e salgadas. Esta espécie consome insetos e larvas diversas, o que permite à mesma controlar populações de mosquitos. Contribuem na fertilização dos viveiros, pois os resíduos fecais em quantidades moderadas se transformam em fertilizantes junto a substâncias revolvidas do fundo dos viveiros pela espécie. Por outro lado, a grande capacidade reprodutiva e a mortalidade quase nula de larvas e alevinos, fazem com que esta espécie se propague desequilibradamente, competindo e consumindo outras espécies aquícolas mais valiosas, sendo assim é recomendado o controle da reprodução destes peixes, sobretudo em pequenos e médios viveiros.

Quanto aos inimigos naturais, espécies de peixes ictiófagos são bons predadores de alevinos e juvenis de tilápia do Nilo, sendo assim, são predadas pelo pirarucú (*Arapaima gigas*) e pela traíra (*Hoplias malabaricus*). O tucunaré (*Cicla ocellaris*) é um excelente controlador de alevinos e juvenis desta espécie quando as taxas de predador-presa estão em

torno de 1: 6 a 1: 8; igualmente, o *Micropterus salmoides* e o *Cichlasoma managuense* nas proporções de 1: 15 e 1: 5, respectivamente (VINATÉIA, 1995).

Segundo CASTAGNOLLI (1992) o peso comercial da tilápia no Brasil está entre 400 e 500g, o que pode ser alcançado com 6 a 8 meses de criação. Sua carne é branca, com boa textura e sabor excelente. Permite a obtenção de filés de alta qualidade, bom tamanho, carne firme com poucas espinhas, bom sabor e excelente para consumo fresco, desidratado, salgado ou defumado. É uma espécie quase que totalmente livre de parasitas e resistente às enfermidades. Pode ser utilizada em cultivos extensivos, semi-intensivos e intensivos, tanto em situações de monocultivo como em policultivo. É de fácil captura com anzóis e, assim, muito apreciada na pesca esportiva (VINATÉIA, 1995).

2.2. REVERSÃO SEXUAL

Para que ocorra a completa reversão de sexo nas espécies gonocoristas, YAMAMOTO (1969) apresenta duas condições básicas: a) o hormônio esteróide deve ser administrado no estágio indiferenciado das gônadas, passando pelo estágio de diferenciação; b) deve-se adequar a dose e o tipo de hormônio a ser utilizado. O modo mais eficiente de administração é a adição do hormônio à ração das larvas e a 17- α -metiltestosterona é o hormônio mais utilizado. Outros métodos podem ainda ser adotados, como a imersão de larvas em solução hormonal e a injeção de soluções hormonais na cavidade peritoneal da fêmea, embora apresentando resultados menos eficientes.

GUERRERO (1975) destaca que a administração do hormônio 17- α -metiltestosterona é efetiva e prática para aplicação em larga escala no processo de reversão

sexual e esta técnica apresenta as seguintes vantagens: a) a reprodução das tilápias em tanques é minimizada ou eliminada; b) as fêmeas não são desprezadas como no método de cultura monossexo de machos sexados; c) é obtida produção mais alta de peixes devido ao melhor crescimento dos machos; d) pode ser empregada uma alta densidade de estocagem no tratamento dos peixes durante a reversão; e) o método não é muito trabalhoso ou oneroso.

PEZZATO (1984) demonstrou que, embora o tratamento hormonal tenha aumentado a taxa de mortalidade das larvas de 19,44 % para 33,90 %, esta não invalidou a técnica de reversão sexual. O autor afirma que 30 mg/kg de ração de 17- α -metiltestosterona é eficiente para a obtenção do monossexo de tilápia do Nilo (100 % machos) durante um período de 60 dias em larvas de três dias de idade e que o grupo de machos revertidos apresentaram maior peso corporal, demonstrando efeito benéfico do hormônio masculinizante sobre o ganho de peso.

O efeito do 17- α -metiltestosterona na reversão de sexo em larvas de *Oreochromis niloticus*, com menos de uma semana de vida foi estudado por CARVALHO (1985). A dose de 30 mg/Kg de ração por 40 e 60 dias foi considerada a mais efetiva resultando em 100 % de machos e no maior incremento de comprimento e peso dos indivíduos.

Segundo POPMA & GREEN (1990), 60 mg/kg de 17- α -metiltestosterona na dieta por períodos de 21 a 28 dias é capaz de reverter para machos 97 a 100 %, de larvas de tilápia do Nilo, com comprimento inferior a 14,0 mm. A densidade de larvas deve ser de 3.000 a 5.000 por m² para otimizar o uso dos tanques redes e reduzir a quantidade de alimento natural disponível. O alimento deve apresentar qualidade nutricional e palatabilidade, a fim de assegurar a ingestão da quantidade de hormônio requerida. Níveis de proteína bruta de

25 a 45 %; com pelo menos metade de origem animal e suplementos vitamínicos e minerais são recomendados.

A influência da idade e do tamanho da larva de *Oreochromis niloticus* na reversão sexual foi estudado por HIOTT & PHELPS (1993). Os grupos receberam 17- α -metiltestosterona na dose de 60 mg/kg por um período de 28 dias e os resultados demonstraram que o tamanho inicial da larva foi mais importante que a idade para a maior eficiência da reversão sexual. O uso de larvas com comprimento inferior a 11 mm resultou em 95,7 % de machos e larvas com comprimento superior a 16 mm em 52,6 %, sugerindo que nas menores não havia ainda diferenciação sexual.

A indução hormonal na reversão sexual, de acordo com PANDIAN & SHEELA (1995), é possível em 47 espécies de peixes gonocoristas (15 famílias) e 34 espécies de peixes hermafroditas. Nesta revisão, os autores afirmam que normalmente são utilizados 16 esteróides androgênicos e 15 esteróides estrogênicos na reversão sexual. A intensidade do tratamento endócrino para a reversão sexual aumenta de acordo os seguintes grupos taxonômicos: Ciclidae < Ciprinodontidae < Anabantidae < Poeciliidae < Salmonidae < Ciprinidae. O 17- α -metiltestosterona e o 17- β -estradiol são os hormônios preferidos para a indução da masculinização e feminização, respectivamente. O tratamento na dieta e os banhos de imersão são os métodos mais aceitos na administração dos esteróides. O período lábil para a reversão não está sempre restrito a um estágio específico da vida dos peixes dos diferentes grupos citados. A reversão sexual em ciclídeos e ciprinídeos pode resultar em crescimento de duas a três vezes mais rápido, quando o tratamento é realizado com doses consideradas ótimas.

PANDIAN & SHEELA (1995) relacionaram as vantagens e desvantagens do uso de hormônios na reversão sexual em peixes. Dentre as vantagens são citadas: a) o tratamento

hormonal assegura maximização do crescimento; b) aumenta o valor comercial de peixes destinados ao consumo e diminui os custos de produção de peixes ornamentais; c) elimina a maturidade precoce em machos; d) a técnica por si própria (peixes vivíparos) ou em combinação com a indução de poliploidia, permite a produção de matrizes para a produção de populações 100 % machos, 100 % fêmeas ou 100 % estéreis; e) pesquisas nesta área tem ajudado no entendimento dos mecanismos dos processos de determinação e diferenciação sexual.

Como desvantagens da técnica de reversão os dois autores relacionam: a) os resíduos dos esteróides administrados são carcinogênicos e podem afetar a consumidores; b) a indução hormonal da reversão sexual pode se tornar um processo estressante e resultar em baixas taxas de sobrevivência; c) a reversão sexual pode retardar a maturidade sexual e reduzir a fecundidade dos peixes; d) altas dosagens pode levar a esterilidade, reversão sexual paradoxal e supressão do crescimento; e) mais de 99 % dos hormônios administrados são metabolizados e liberados dentro de poucas horas ou dias nas águas de cultivo, sendo assim, em grande escala a reversão sexual pode se tornar uma técnica capaz de poluir o ambiente.

O efeito do 17- α -metiltestosterona em larvas de tilápia do Nilo, estocadas em berçários de madeira foi estudado por RIBEIRO DIAS *et al.*, (1996). O hormônio foi fornecido nas dosagens de 30 e 60 mg/Kg de ração para larvas com comprimento variando de 9 a 11 mm, por um período de 35 dias. Os resultados demonstraram produção de mais de 95 % de indivíduos machos.

Para POPMA & LOVSHIN (1996), o cultivo comercial em larga escala de tilápia é quase exclusivamente com monosexos machos, ou seja, mais de 95 % de machos. O cultivo de machos previne ou reduz a desova, e tem como vantagem o maior crescimento dos

machos quando comparado às fêmeas e a técnica mais comum para a produção de alevinos machos é a reversão sexual. Segundo estes autores, na reversão sexual, esteróides masculinos são administrados a larvas recém eclodidas. Este manejo faz com que os tecidos, ainda indiferenciados, das gônadas de fêmeas (geneticamente fêmeas) se desenvolvam em tecido testicular, produzindo indivíduos que crescem e funcionam reprodutivamente como machos. A administração do hormônio é feita via oral através da alimentação e o processo deve ser iniciado antes que o tecido da gônada primitiva tenha se diferenciado em tecido ovariano, o que em *Oreochromis spp.* em águas com temperaturas de 24 a 28 °C, se dá na 3^a ou 4^a semanas após a eclosão, com tamanhos variando de 11 a 14 mm. Para a produção de larvas em viveiros abertos normalmente se usa tanques de 60 a 90 cm de profundidade e menos que 0,2 ha de área, sendo os reprodutores estocados a uma taxa de 0,2 a 0,5 Kg/m² na proporção de 1 macho para 2 a 3 fêmeas e dependendo da temperatura da água os viveiros são drenados e despescados a cada 15 a 20 dias do povoamento com as matrizes. A produção mensal de larvas com este método está em torno de 1 larva por grama de fêmea reprodutora.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), o método mais intensivo de produção de larvas para a reversão sexual é o uso de tanques rede de malha fina. Os reprodutores sexados permanecem separados por 10 a 14 dias até o início do novo ciclo reprodutivo. As matrizes são estocadas em tanques rede de malha de 1 mm com uma taxa de 0,2 a 0,6 Kg/m² com uma frequência de despesca de 5 a 7 dias, sendo a relação ideal entre machos e fêmeas de 1:1. A produção de ovos em coletas de 5 a 7 dias de intervalo fica em torno de 4 a 8 ovos por grama de fêmea.

De acordo com estes pesquisadores, larvas com idade e tamanho adequados são usualmente revertidas sexualmente em tanques rede. Em tanques rede de malha de 1 mm

suspensos em viveiros, as larvas são estocadas a uma densidade de 3.000 a 5.000/m², e alimentadas com dietas contendo de 30 a 60 mg de 17- α -metiltestosterona / Kg de ração por um período de 3 a 4 semanas em taxa diária de 20 % na primeira semana, 15 % na segunda e terceira semana e 10 % na quarta semana. As taxas de sobrevivência são em torno de 60 a 80 %. Fitoplâncton abundante nos viveiros de reversão não reduz a eficácia da reversão, mas baixas temperaturas da água reduzem a taxa de crescimento, podem prolongar a duração do tratamento por uma semana, mas não afetam negativamente a eficácia do tratamento. Ocasionalmente podem ocorrer percentuais de 80 a 90 % de reversão. As razões ainda não estão claramente entendidas, mas o tamanho/ idade adequados para o início do tratamento, bem como um crescimento muitas vezes acelerado, são causas prováveis. A combinação de alta temperatura e boa qualidade da ração pode induzir a larva a passar muito rapidamente pela estreita fase da susceptibilidade da reversão sexual.

O esteróide 17- α -metiltestosterona é eliminado logo após o término do tratamento, não sendo mais encontrado em peixes de 1 g. Sugerindo não haver nenhum dano ao consumidor já que o peixe é criado muitos meses sem esteróides antes do abate. A venda de tilápia tratada com esteróides não é aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA) e tecnicamente a tilápia tratada com esteróides em qualquer estágio do seu ciclo de vida é ilegal para ser vendida nos EUA, embora centenas de toneladas de tilápias tratadas com esteróides, quando larvas, são atualmente comercializadas nos EUA. Um grande número de agências educacionais e governamentais trabalham junto ao FDA para desenvolver as evidências necessárias para a aprovação do uso do esteróide na reversão.

2.3. CITOGENÉTICA

A citogenética de peixes apresentou um grande desenvolvimento nos últimos anos, graças a introdução de novas técnicas de preparação e análise cromossômica, contribuindo para estudos filogenéticos e taxonômicos, como também para maior compreensão da estrutura cromossômica. Tais estudos tiveram notável avanço a partir do final da década de 70, com a utilização da técnica de suspensão de células e secagem ao ar. Desde então, muitos trabalhos descreveram métodos diretos modificados (BERTOLLO *et al.*, 1978; AL-SABTI *et al.*, 1983; FORESTI *et al.*, 1993a), ou métodos de cultura de linfócitos e de tecido sólido (KLIGERMAN & BLOOM, 1977; BLAXHAL, 1983; HARTLEY & HORNE, 1985; FENOCCHIO & BERTOLLO, 1988; FENOCCHIO *et al.*, 1991). A técnica de bandeamento cromossômico sobre o material fixado, utilizada rotineiramente em análises citogenéticas humanas e de vertebrados, tais como Banda C, G e Localização de N.O.R.s (regiões organizadoras de nucléolos) também contribua favoravelmente nas análises cromossômicas de peixes.

Referente aos possíveis mecanismos de determinação de sexo, os peixes representam um grupo heterogêneo, com uma grande maioria não apresentando diferenciação morfológica dos cromossomos sexuais. No entanto, em alguns casos é possível identificar cromossomos que carregam genes determinantes de sexo através de técnica de bandeamento. Cromossomos sexuais diferenciados morfológicamente tornaram-se freqüentemente relatados em peixes, incluindo machos e fêmeas heterogaméticos (XX/XO; XX/XY; ZZ/ZW) e, em menor grau, mecanismos múltiplos de cromossomos

sexuais ($X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$; $X_1X_1X_2X_2/X_1X_1X_2$; XX/XY_1Y_2 ; etc) (OZOUF-COSTAZ & FORESTI, 1992)

Estudos de cromossomos meióticos são sempre necessários para avaliar a existência de cromossomos sexuais diferenciados e explicar o mecanismo de determinação do sexo (Chourrout, 1991 In: OZOUF-COSTAZ & FORESTI, 1992). Atualmente, a utilização do estudo do complexo sinaptonêmico (CS), em microscopia óptica e eletrônica em peixes, permite uma análise mais adequada sobre o emparelhamento dos cromossomos nas espécies e auxilia também na compreensão dos mecanismos de determinação do sexo neste grupo. Alguns dos resultados são confiáveis e exatos como já observados por WAISE & NAIL, (1984); FORESTI *et al.*, (1993a) e OLIVEIRA *et al.*, (1995).

Experimentos realizados por MAIR *et al.* (1991) com reversão sexual, ginogênese e triploidia em *Oreochromis niloticus* têm mostrado que esta espécie apresenta heterogametia masculina. Recentemente, a análise do CS de tilápia do Nilo confirmou o número diplóide de $2N = 44$ e mostrou que possivelmente um sistema cromossômico sexual XY ocorra nesta espécie (FORESTI *et al.*, 1993b).

2.4. FISILOGIA

De acordo com DONALDSON *et al.* (1979), o hormônio 17- α -metiltestosterona exerce efeitos anabólicos dose dependentes e são capazes de favorecer o ganho ou a perda de peso em peixes. Segundo o autor, a temperatura e a salinidade da água, a duração e a forma de tratamento hormonal, a espécie envolvida e as condições experimentais são fatores determinantes para a atuação dos esteróides no anabolismo dos peixes.

Segundo Takashima *et al.*, (1972; In: MATTY & LONE, 1985) não foram observadas mudanças em truta arco-íris nos lipídeos plasmáticos após injeção intraperitoneal de 17- α -metiltestosterona. No entanto os autores demonstraram uma significativa redução no lipídeos viscerais. Redução nos lipídeos viscerais e um pequeno aumento no conteúdo de lipídeos na carcaça foi observado por Simpson (1976; In: MATTY & LONE, 1985) em truta arco-íris após 17- α -metiltestosterona na dose de 2,5 mg/kg na dieta. Um aumento nos lipídeos e colesterol musculares após o tratamento com metiltestosterona, na dose de 1 à 10 mg/kg na ração, também foi observado em carpas por LONE & MATTY (1980). Yú (1979, In: MATTY & LONE, 1985) demonstrou que a análise dos ácidos graxos, dos fosfolipídeos totais em salmão coho *Oncorhynchus kisuth*, alimentados com ração contendo 17- α -metiltestosterona e testosterona (2,5 mg/g de ração) não revelou nenhuma mudança significativa.

Weigand & Peter (1980; In: MATTY & LONE, 1985) estudaram os efeitos da testosterona sobre os níveis plasmáticos de lipídeos totais e de ácidos graxos livres em goldfish. Segundo estes autores, o hormônio não alterou os lipídeos totais plasmáticos, mas aumentou os níveis de ácidos graxos. Os autores sugerem que este aumento nos ácidos graxos livres foi devido a interferências hipotalâmicas ou neurais, mas o exato mecanismo para este efeito ainda não está claro para os mesmos.

LAURE *et al.* (1986) avaliaram a performance da tilápia do Nilo revertidas sexualmente em tanques rede instalados em viveiro de terra. Os resultados demonstraram que os peixes revertidos sexualmente apresentaram maior ganho de peso (9,87 a 44,99 %). Para os autores, a reversão sexual apresenta um efeito benéfico provavelmente por permitir melhor aproveitamento do alimento.

Segundo POPMA & GREEN (1990), a quantidade total de hormônio consumido pelas larvas durante a reversão sexual é pequena, em comparação com as doses terapêuticas normais para humanos. A dose diária mínima de testosterona recomendada para homens deficientes em andrógenos é mais do que 100 vezes maior do que a quantidade total consumida pela larva de tilápia durante todo o processo de reversão sexual. O fígado converte o hormônio em compostos solúveis em água, os quais são excretados na bile e urina, sendo 90% do hormônio excretado na urina dentro de 24 horas e menos de 1 % do hormônio permanece no peixe 3 semanas depois que a dieta é suspensa. Durante o crescimento até o tamanho de mercado, os peixes continuam a excretar o hormônio remanescente. Ao final da engorda, a quantidade de testosterona proveniente da dieta é insignificante, em comparação com a quantidade produzida por um macho adulto não revertido.

VERA CRUZ & MAIR (1994) avaliaram o efeito da 17- α -metiltestosterona (40 mg/kg) sobre o crescimento e sobrevivência de larvas de *Oreochromis niloticus*. O andrógeno não afetou o crescimento e a sobrevivência durante o período de tratamento resultando 95,4 % de machos nos tanques rede. Os índices gonado-somáticos, embora menores no grupo de peixes tratados, não apresentou diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle.

Segundo CYRINO (1995), vários fatores governam, limitam ou estimulam o crescimento dos peixes, sendo que os fatores nutricionais, metabólicos e bioenergéticos são aqueles que influenciam o processo de crescimento de maneira imediata. Para este pesquisador, o sucesso na criação dos organismos aquáticos depende de um programa nutricional abrangente, espécie-específico e coerente com as peculiaridades fisiológicas destes organismos.

2.5. COMPOSIÇÃO CORPORAL E PROCESSAMENTO

A atual situação crítica de alimentação existente no mundo torna imperativo que sejam estudados e difundidos os dados sobre composição química e física dos possíveis tipos de alimentos que estão disponíveis ao consumo humano. Isto permite um melhor conhecimento da qualidade dos alimentos produzidos e um uso mais adequado pelas populações que consome os mesmos.

Vive-se atualmente um impulso na piscicultura brasileira, e em particular, do cultivo de tilápia do Nilo revertidas sexualmente. Sendo assim, é de extrema importância o estudo da composição química da carcaça e de filés. Sabe-se que um grande volume de filés de tilápia do Nilo são comercializadas no Brasil e poucos são os dados sobre a qualidade química e física dos mesmos. Percebe-se que existe uma grande aceitação de filés desta espécie e que os mesmos apresentam poucos espinhos e excelentes qualidades organolépticas, no entanto, seu consumo fica restrito em função da oferta do produto e preços compatíveis com o mercado de pescados.

Segundo STANSBY & OLCOTT (1968), o conhecimento da composição química de um pescado e, em especial, dos teores de água e gordura, são importantes para determinar os rendimentos em produtos industrializados, tais como, concentrados protéicos de pescado, farinha de peixe e outros produtos, nos quais a desidratação ou a extração do óleo arrastam consigo parte da água e do óleo durante o processamento.

Para STANSBY & OLCOTT (1963), algumas espécies de peixes apresentam variações na composição de carcaça dependentes do sexo. A maioria, entretanto, apresenta as maiores variações relacionadas aos diversos estágios de desenvolvimento gonadal,

tendendo a uma diminuição do teor de proteína, à medida que se aproxima a desova. Por outro lado, a dieta consumida e a energia despendida pelo peixe também interfere fortemente na composição química do pescado.

De acordo com Sanches (1983; In: CEREDA & SANCHES, 1983), do ponto de vista da alimentação humana, a importância do pescado está baseada, principalmente, em seu conteúdo em proteínas e vitaminas. A qualidade da matéria-prima depende das características naturais da carne do pescado, que podem variar segundo a estação do ano, as condições de desova, a idade e o local de captura, que influem especialmente no teor de gordura (ou de água) da carne e no sabor final da mesma.

Segundo SAN MARTIN *et al.* (1992), o mercado de filés é restrito a peixes de carne branca e isento de espinhos intramusculares, requisitos que são preenchidos pela tilápia do Nilo. Machos de tilápia do Nilo, de 220 g a 560 g, filetados, resultaram de 31,53 % a 40,91 % de filé. Para os pesquisadores, existe uma tendência linear de acréscimo do peso de filé com o aumento do peso vivo e pode ser estimado um incremento de 0,3609 g de filé para cada grama de ganho de peso vivo de peixe.

CLEMENT & LOWELL (1994) estudaram o rendimento e composição da carcaça da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). O rendimento da carcaça com a retirada da cabeça, pele e vísceras foi de 51 % e para o filé de 25,4 %. A quantidade de gordura no filé foi de 5,7 g/100g e proteína de 20,3 g/ 100g. O filé apresentou 2,3 g/ 100g de cinzas, 75,3 g/ 100g de água, 31,3 mg/ 100g de colesterol e 139,8 quilocalorias/100g.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), o rendimento na filetagem aumenta se a tilápia é bem alimentada e robusta. Sendo assim, tilápias de 800 a 1200 g apresentam de 1 a 2 % maior rendimento de filé quando comparadas a tilápias de 500 a 800g. A região do músculo vermelho acumula maior quantidade de lipídeos. Tilápias com pesos superiores a

600 g acumulam maior quantidade de músculo vermelho quando comparadas a peixes de menor peso.

Segundo EL-DAHAR (1997), a composição da carcaça da tilápia do Nilo foi afetada pelo aumento do peso corporal dos peixes. Sendo assim, a proteína aumentou de 12,7 % para 18,5 %, enquanto a gordura e o teor de água diminuiu de 3,1 % e 77,8 % para 2,7 % e 71,3 % respectivamente, com o peso corporal das tilápias passando de 2 para 250 g. O índice hepato somático aumentou de 1,14 para peixes com 15 g para 2,9 quando os mesmos atingiram 250 g.

2.6. MERCADO CONSUMIDOR

Os números referentes ao incrível aumento do consumo de carne de tilápia no mercado norte-americano, divulgados pela A. T. A.- American Tilapia Association (1995), mostram claramente que a tilápia já pode ser considerada um sucesso entre os consumidores norte-americanos (CARVALHO FILHO, 1995b). Neste país, a importação de tilápia cresceu de 14.515 toneladas em 1993 para 22.226 toneladas em 1994, um aumento de 53 %. O destaque ficou por conta de Taiwan que exportou no período 16.330 toneladas ou o equivalente a 16 milhões de dólares.

Somando as importações com a produção doméstica de tilápias, os norte-americanos consumiram 28.123 toneladas do produto em 1995, fazendo com que o consumo da tilápia já tenha ultrapassado, pela primeira vez, o consumo interno de trutas (24.948 toneladas). Ainda, segundo a ATA (1995), em pesquisa feita junto ao mercado prestador de serviços de alimentação, o produto da aquicultura mais utilizado é a tilápia. Oitenta e um por cento dos

consumidores de tilápias são os restaurantes. Segundo esta associação, a tilápia é o produto ideal para o setor de restaurantes por apresentar um sabor suave, carne branca (importante para o consumidor norte-americano), sem espinhos e estar disponível em porções controladas de filés.

No primeiro semestre de 1996, as importações norte-americanas de tilápias cresceram 23 % comparadas ao primeiro semestre de 1995 (CARVALHO FILHO, 1996). Muito desse crescimento se deveu a maiores importações da Colômbia, Equador e Taiwan. O valor total das importações alcançou U\$ 20,3 milhões, 32 % a mais que o mesmo período no ano anterior. O preço médio da tilápia congelada também cresceu no mesmo período, U\$1,39/ Kg no primeiro semestre de 1995 para U\$1,59/ Kg no primeiro semestre de 1996. Desta forma, segundo o Departamento de Agricultura do Governo norte americano, a tilápia vem se transformando numa das espécies mais comuns de peixes consumidos nos EUA. A grande surpresa entretanto, ficou por conta do Equador, que alcançou o terceiro lugar no “ranking” dos fornecedores, atrás somente da Costa Rica e de Taiwan. O Equador é o maior fornecedor de camarões cultivados do ocidente e neste momento sua indústria de aquicultura busca a diversificação. Em alguns casos, as tilápias já são produzidas em viveiros outrora utilizados para o cultivo de camarões.

Segundo SILVA & CHAMMAS (1997), embora a tilápia venha sendo cultivada no Brasil há mais de três décadas, somente na década de 90 surgiram cultivos intensivos desta espécie. A partir de 1992, o uso de alevinos sexo revertidos tornou-se comum entre os piscicultores brasileiros. O sistema de cultivo semi-intensivo é mais comumente utilizado no Oeste do Paraná, onde *Oreochromis niloticus* monosexo revertido tem sido muito utilizado.

Para estes pesquisadores sistemas de cultivo intensivo com aeração e alimentação apropriada são cada vez mais frequentes na região Oeste do Paraná. Até o presente, encontra-se na região 22 pequenas e médias filetadoras de tilápia, processando em torno de 2.000 toneladas de peixe/ano, mas com capacidade três vezes maior de processamento. Segundo estes autores, a espécie mais cultivada é a *Oreochromis niloticus*, embora algumas linhagens de tilápia vermelha recentemente introduzidas no Brasil tem atraído a atenção de muitos piscicultores, especialmente daqueles interessados na pesca esportiva.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LOCAL E INSTALAÇÕES

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina (EPUEL), localizada na região Norte do Estado, no município de Londrina, PR (23°30' de Latitude Sul e 51°30' de Longitude a Oeste de Greenwich, a uma altitude média de 700 m) de 12/12/94 a 26/04/96. O clima da região caracteriza-se por verões quentes com temperaturas acima de 23 °C e tendência a invernos amenos, com temperaturas entre 16,4 °C a 19,8 °C. De acordo com a Divisão Climática do Estado do Paraná, esta classificação se enquadra no tipo CFA. mesotérmico; sem estação seca definida, sempre úmido e com precipitação maior que 600 mm anuais.

As análises citogenéticas foram realizadas no Depto. de Biologia Geral, CCB/ UEL, Londrina, PR. e as análises morfológicas, metabólicas, hormonais e de composição corporal realizadas nos laboratórios do Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal, SP.

3.2. CULTIVO DOS PEIXES (PRIMEIRA ETAPA EXPERIMENTAL)

3.2.1. REVERSÃO SEXUAL

Foram selecionados 44 machos e 98 fêmeas de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. Inicialmente, os reprodutores foram mantidos separados, em dois viveiros de terra, revestidos de lona, com área de 11,5 m² e 0,55 m de profundidade e abastecidos com água de poço semi-artesiano a uma taxa de renovação de 10 l/ s./ ha. Os parentais permaneceram nos viveiros por 10 dias, recebendo ração extrusada comercial, 2 vezes ao dia, “ad libitum”. Os níveis de garantia, a composição básica, os eventuais substitutos, e o enriquecimento por quilo do produto, de acordo com o fabricante, estão descritos na Tabela 1.

As matrizes foram então transferidas para um viveiro de terra com 125 m² e 1,10 m de profundidade (Fig. 1). Este viveiro foi abastecido com água de poço semi-artesiano a uma taxa de renovação de 10 l/ s./ ha. Os peixes foram alimentados, 2 vezes ao dia, com a mesma ração extrusada a 3 % da biomassa.

A temperatura da água foi avaliada diariamente às 9:00 e às 17:00 horas. A temperatura média da água dos viveiros dos parentais serviu como base de indicação da duração do ciclo de reprodução das tilápias, de acordo com a Tabela 2 descrita por POPMA & GREEN (1990).

Durante a fase de reversão sexual foram avaliados os valores de oxigênio dissolvido (ppm), amônia - NH₃ (ppm) e alcalinidade (mg de CaCO₃/ litro). A metodologia utilizada

para avaliação desses parâmetros está descrita no Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (1980) e conforme LIND (1979).

Tabela 1. Níveis de garantia, composição básica, eventuais substitutos e enriquecimento por kg do produto da ração extrusada comercial*.

Item e níveis de garantia	Percentual na ração
Umidade (máx.)	13
Proteína Bruta (min.)	28
Extrato Etéreo (min.)	3
Matéria Fibrosa (máx.)	9
Matéria Mineral (máx.)	10
Cálcio (máx.)	1,6
Fósforo (min.)	0,6

* Pirá Tropical Crescimento (Mogiana Alimentos S.A.).

Composição básica: Milho, farelo de soja, farelo de glúten de trigo 21%, farelo de glúten de milho 60%, farinha de peixe, farinha de carne e ossos, levedura de álcool de cana, óleo de soja, sal, carbonato de cálcio, suplemento vitamínico mineral.

Eventuais substitutos: sorgo, farinha de sangue, farelo desengordurado de arroz, farinha de osso calcinado, quirera de arroz, germe de milho, farelo de girassol, fosfato bicálcio, ostra.

Enriquecimento por Kg do produto: Vitamina A: 12.000 UI; Vitamina D3: 2.000 UI; Vitamina E: 15 UI; Vitamina K: 2 mg; Tiamina: 1,5 mg; Riboflavina: 6 mg; Niacina: 35 mg; Ácido Pantotênico: 11 mg; Piridoxina: 2,5 mg; Colina: 350 mg; Ácido Fólico: 0,6 mg; Biotina: 100 mcg; Vitamina B12: 15 mcg; Zinco: 60 mg; Manganês: 70 mg; Cobre: 8 mg; Ferro: 30 mg; Iodo: 1 mg; Cobalto: 0,1 mg; Selênio: 0,2 mg; Antioxidante(Etoxiqum): 125 mg.

Figura 1. Vista do viveiro de matrizes e coleta de larvas.

Figura 2. Vista de tanques rede de cultivo de larvas na reversão sexual.

Tabela 2. Duração do ciclo de reprodução em função da temperatura média da água do viveiro de reprodução para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*.

Temperatura da água (°C)	Duração do ciclo (dias)
menor que 25°C	20 à 23
25 à 28°C	17 à 21
maior que 28°C	14 à 18

(POPMA & GREEN, 1990).

O viveiro foi observado diariamente e assim que visualizados cardumes de larvas, estas foram coletadas com puçás (malha de 1 mm). As larvas coletadas foram transferidas para o laboratório em baldes plásticos e água limpa, na mesma temperatura da água do viveiro. No laboratório da Estação de Piscicultura da UEL, as larvas foram selecionadas com auxílio de um classificador de larvas (bacia plástica contendo furos de 2,8 mm), que permitiu a exclusão e descarte de larvas com tamanho superior a 11 mm.

De cada lote de larvas, coletou-se uma amostra para avaliação do comprimento total, peso, e quantidade por centímetro cúbico. Com paquímetro avaliou-se o comprimento total e com balança analítica eletrônica Sartorius (Brinkmann Instruments, Alemanha) o peso corporal. Uma seringa plástica de 5 ml, com furos de 1 mm, para drenagem de água, foi utilizada para a contagem das larvas por estimativa.

Após avaliação do peso e comprimento, as larvas foram contadas e transferidas para tanques rede de 1,96 m² de área e 1,20 m de profundidade instalados em viveiro de terra de 168 m² (Fig. 2). Os tanques rede foram instalados com o auxílio de estacas de madeira e cordas de seda de 4 mm de diâmetro. O viveiro foi abastecido com água de poço semi-artesiano com taxa de 10 l/ s./ ha.

Quinze dias antes de receber as pós larvas o viveiro de terra foi drenado e tratado com cal virgem (50g/ m²) e cinco dias antes do povoamento com as larvas foi cheio com

água do poço semi-artesiano. Foi utilizada uma densidade de 1000 larvas/ m², com 1960 larvas por tanque. Foram montados 1 tanque rede controle e 3 tanques rede experimentais, ou seja 3 repetições para o tratamento em que as larvas receberam dieta contendo 17- α -metiltestosterona.

Para a dieta das larvas foi utilizada uma ração comercial, finamente moída em desintegrador, com peneira de 1 mm. Após desintegrada, a ração foi submetida a uma peneira (malha 0,6 mm) para a retirada de grânulos não desintegrados. Os níveis de garantia, a composição básica, os eventuais substitutos e o enriquecimento por kg do produto, de acordo o fabricante, estão descritos na Tabela 3.

A dieta contendo o hormônio 17- α -metiltestosterona foi preparada segundo SHELTON *et al.* (1981), com dose de 60 mg do hormônio por quilo de ração. O hormônio foi diluído em álcool absoluto e esta solução acrescida à ração na proporção de 0,5 litro para 1 quilo de ração. Com o uso de luvas e máscara, o álcool + hormônio foi misturado à ração até a formação de uma massa homogênea. Essa massa foi espalhada sobre uma lona plástica e deixada para secar em local sombreado e ventilado por 24 horas. Após total evaporação do álcool, a ração foi passada por uma peneira (malha 0,6 mm) para a retirada dos grumos formados com a mistura. Finalmente, a ração foi embalada em sacos plásticos e conservada a - 20 °C.

Nas duas primeiras semanas do tratamento, a dieta foi oferecida 4 vezes ao dia a uma taxa de 20 % da biomassa. Posteriormente e até o final do tratamento a oferta foi de 10 % da biomassa. O tratamento durou 4 semanas, e neste período foram realizadas uma biometria inicial, uma aos 15 dias e uma final. Em cada biometria foram avaliados o peso e o comprimento corporal de parte da população, e na última a taxa de mortalidade, com recontagem e despesca total dos tanques rede.

O incremento de peso e comprimento foi calculado subtraindo-se os valores obtidos na última biometria dos valores da primeira, para cada tanque rede.

Tabela 3. Níveis de garantia, composição básica, eventuais substitutos e enriquecimento por kg do produto para a ração comercial *.

Item e níveis de garantia	Percentual na ração
Umidade (máx.)	13
Proteína Bruta (min.)	32
Extrato Etéreo (min.)	3
Matéria Fibrosa (máx.)	8
Matéria Mineral (máx.)	10
Cálcio (máx.)	1,5
Fósforo (min.)	0,5

* Pirá Tropical Inicial (Mogiana Alimentos S.A.).

Composição básica: Milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de penas hidrolizadas, farinha de peixe, carbonato de cálcio, premix vitamínico mineral, protenose.

Eventuais substitutos: farelo desengordurado de arroz, farelo de soja extrudado, farinha de crisálidas, fosfato bicálcico, lecitina de soja, levedura seca de cervejaria, farinha de camarão refinazil.

Enriquecimento por Kg do produto: Ácido fólico: 0,65 mg; Ácido pantotênico: 12 mg; Antioxidante: 125 mg; Colina: 2.000 mg; Cobre: 6 mg; Cobalto: 0,01 mg; Ferro: 25 mg; Iodo: 0,80 mg; Manganês: 60 mg; Selênio: 0,20 mg, Vitamina A: 12.000 UI, Vitamina B1: 1,50 mg; Vitamina B12: 20 mcg; Vitamina B6: 2,5 mg; Vitamina C: 300 mg; Vitamina D3: 2.000 UI; Vitamina E: 15 UI; Vitamina H: 0,01 mg; Vitamina K3: 2 mg; Vitamina PP: 35 mg; Zinco: 50 mg.

3.2.2. ALEVINAGEM

Foram utilizados 72 alevinos de tilápia do Nilo em tanques rede de 1,96 m² de área e 1,20 m de profundidade, instalados em viveiro de terra de 168 m². Foi instalado 1 tanque rede controle (população de machos e fêmeas) e 3 tanques rede experimentais (população de peixes submetida ao tratamento de reversão sexual) no mesmo viveiro de terra abastecido com água do poço semi-artesiano (10 l/ s./ ha). A posição de cada tanque rede no viveiro foi distribuída aleatoriamente por sorteio. O restante dos alevinos controles e revertidos foram estocados em tanques rede de 8 m² de área (4m x 2m x 0,80 m, malha 2 x 1 mm) no mesmo viveiro de terra, com densidades em torno de 250 peixes/m².

Os peixes foram alimentados com ração extrusada comercial com 32 % de PB, de 1 a 4 vezes ao dia, com 1 a 10 % da biomassa, de acordo com tabelas de alimentação e temperatura (Tab. 4, 5 e 6).

Durante 3 meses de alevinagem foram realizadas 3 biometrias com avaliação do peso e comprimento total de parte da população. Na última biometria, foi avaliada a taxa de mortalidade através da despesca total dos tanques rede e contagem dos peixes.

Após a realização da biometria final, foram coletados aleatoriamente 15 indivíduos do lote controle e 15 indivíduos de cada repetição do lote revertido. Estes peixes foram anestesiados com benzocaína (3 g/ 15 l). Posteriormente, os peixes foram sacrificados e as gônadas retiradas. Este material foi analisado histologicamente para determinação da taxa de reversão sexual obtida no experimento.

O incremento de peso e comprimento foi calculado subtraindo-se os valores obtidos na última biometria dos valores da primeira, para cada tanque rede.

Tabela 4. Diâmetro de pellete recomendado para larvas, alevinos e adultos de tilápia.

Idade ou peso do peixe	Diâmetro da partícula
0 a 24 horas	líquido
2 a 10 dias	0,5 mm
10 a 30 dias	0,5 a 1 mm
0,5 a 1,0 g	0,5 a 1,5 mm
1,0 a 30 g	1 a 2 mm
20 a 120 g	2 mm
100 a 250 g	3 mm
> 250 g	4 mm

(Luquet, P., In: WILSON, R.P., 1991)

Tabela 5. Tabela de alimentação diária com ração contendo 25 % de proteína bruta em tanques de crescimento de tilápias.

Peso do peixe (g)	(g ração/ peixe/ dia)
5-10	0,5
10-20	0,8
20-50	1,6
50-70	2,0
70-100	2,4
100-150	2,7
150-200	3,0
200-300	3,7
300-400	4,5
400-500	5,2
500-600	6,0

(Luquet, P., In: WILSON, R.P., 1991)

Tabela 6. Taxa de alimentação diária e número de refeições para tilápias de diferentes pesos e em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tilápia < 100 g		Tilápia > 100 g	
	(%) sobre taxa normal	número de refeições	(%) sobre taxa normal	número de refeições
>24	100 %	4	100 %	4
24 a 22	70 %	3	50 %	2
22 a 20	50 %	2	40 %	2
20 a 18	35 %	2	25 %	2
18 a 16	20 %	2	10 %	1
< 16	-	-	-	-

(Luquet, P., In: WILSON, R.P., 1991)

3.2.3. CULTIVO DE JUVENIS

12 tanques rede de 8 m² de área (4m x 2m x 0,80 m, malha 2 x 1 mm) foram instalados em viveiro de terra de 168 m² e 1,20 m de profundidade abastecido com água do poço semi-artesiano (10 l/ s./ ha). Com auxílio de estacas de madeira e cordas de seda trançada de 4 mm (Fig. 3), foram instalados 6 tanques rede controle (machos e fêmeas) e 6 tanques rede experimentais (população de peixes submetida ao tratamento de reversão sexual). A posição de cada tanque rede no viveiro foi distribuída aleatoriamente por sorteio.

Cada tanque rede foi povoado com 75 juvenis de tilápia do Nilo, com pesos variando entre 8 e 26 gramas. Os peixes foram alimentados com ração extrusada comercial com 32 % de PB. (Tab. 3) de 1 a 4 vezes ao dia, com 1 a 5 % da biomassa, de acordo com tabelas de alimentação e temperatura (Tab. 4, 5 e 6).

Durante um período aproximado de 5 meses foram realizadas 5 biometrias com avaliação do peso e comprimento corporal total de parte da população. Na última biometria, foi avaliada a taxa de mortalidade através da despesca total dos tanques rede.

Durante a fase de cultivo de juvenis o experimento inicia com 6 repetições por tratamento e termina com 5 repetições em virtude de queda de dois tanques rede provocados por chuva e ventos fortes.

O incremento de peso e comprimento foi calculado subtraindo-se os valores obtidos na última biometria dos valores da primeira, para cada tanque rede.

3.2.4. ENGORDA

Nas mesmas instalações descritas no item 3.2.3. foram instalados 6 tanques rede controle (machos sexados) e 6 tanques rede experimentais (população de peixes submetida ao tratamento de reversão sexual). A posição de cada tanque rede ocupado no viveiro foi distribuída aleatoriamente por sorteio.

Cada tanque rede foi povoado com 20 tilápias com pesos variando entre 140 e 260 g. Os peixes foram alimentados com ração extrusada comercial com 28 % de PB. e 4 mm de diâmetro (Tab. 1), administrada de 1 a 4 vezes ao dia, com 1 a 5 % da biomassa, de acordo com tabelas de alimentação e temperatura (Tab. 4, 5 e 6).

Figura 3. Vista dos tanques rede de cultivo dos juvenis e engorda

Figura 4. Exemplar de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* em fase final de engorda.

Durante os 4 meses da fase de engorda, foram realizadas 4 biometrias com avaliação do peso e comprimento total de parte da população. Na última biometria foi avaliada a taxa de mortalidade com a despesa total dos tanques rede. Na Figura 4 pode ser visto um exemplar de um peixe em fase final de engorda.

O incremento de peso e comprimento foi calculado subtraindo-se os valores obtidos na última biometria dos valores da primeira, para cada tanque rede.

3.2.5. ANÁLISE QUANTITATIVA DOS DADOS DE CULTIVO

A partir dos dados biométricos obtidos nas várias fases do cultivo, realizou-se uma análise quantitativa dos valores médios de comprimento total (Lt) e de peso total (Wt) das tilápias do Nilo controle e experimentais. A relação peso/comprimento e o fator de condição alométrico foram calculados de acordo com SANTOS (1978).

Os dados de peso total e comprimento total das tilápias controle e revertidas foram distribuídos em gráficos, onde o comprimento total foi considerado a variável independente (X). Empregando-se o método indutivo (SANTOS, 1978), verificou-se que a expressão a ser utilizada para o ajuste das curvas seria do tipo: $W_t = a.L_t^b$; onde a (K) é o fator de condição alométrico e b é a constante relacionada com a forma de crescimento do corpo dos peixes.

Os valores relativos ao comprimento total e peso total foram transformados em logaritmos naturais e ajustados pelo método dos mínimos quadrados. Da respectiva reta, representada pela equação: $\ln W_t = \ln a + b.\ln L_t$, obtivemos $W_t = a.L_t^b$. Sendo assim, foram estimados os valores de b para cada grupo e em cada fase de cultivo. A partir dos dados de

L_t , W_t e b foi calculado o K (fator de condição), de acordo a equação $K = W_t / L_t^b$. Os valores médios de K obtidos em cada biometria para o grupo de tilápias controles e revertidas, foram então lançados em gráfico para se verificar a variação do mesmo, ao longo das 4 fases do cultivo. De acordo com BRAGA (1986), b é o valor do coeficiente angular da expressão da relação peso/ comprimento ($Y: a X^b$), após transformação logarítmica e ajuste pelo método dos mínimos quadrados (assumindo que Y é o peso e X é o comprimento total).

Os incrementos médios diários de peso (I.M.P.) e comprimento (I.M.C.) foram calculados segundo LEITE (1987). Desta forma, durante as 4 fases do cultivo, foi calculada a razão entre a diferença do peso total médio num instante t (W_{tb}) e o peso total médio num instante anterior (W_{ta}) e o intervalo de tempo entre estes instantes ($t_b - t_a$), ou seja $I.M.P. = (W_{tb} - W_{ta}) / (t_b - t_a)$. Utilizou-se o mesmo critério para o cálculo do incremento de comprimento, sendo assim, o mesmo foi calculado através da seguinte fórmula: $I.M.C. = (L_{tb} - L_{ta}) / (t_b - t_a)$.

3.3. CULTIVO DOS PEIXES (SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL)

Para as análises citogenéticas, morfológicas, fisiológicas e de composição corporal foram utilizadas 20 tilápias adultas (11 machos e 09 fêmeas) em plena fase de reprodução e 34 tilápias adultas submetidas ao tratamento de reversão sexual e em fase final de engorda. Os machos e fêmeas foram obtidos de um viveiro de terra de 150 m² (renovação de água de 10 l/ s./ ha), alimentados “ad libitum” com a ração extrusada comercial com 28 % de

PB.(Tab. 1). Este viveiro foi povoado com a proporção de duas fêmeas para cada macho em uma densidade de 3 peixes/m².

Os peixes revertidos foram obtidos de um viveiro de terra de 750 m² (renovação de água de 10 l/ s./ ha), alimentados “ad libitum” com a ração extrusada comercial com 28 % de PB.(Tab. 1), na densidade de cultivo de 3 peixes/m².

Três semanas antes da data prevista para a coleta das amostras, estes peixes foram transferidos para 04 tanques rede (4m x 2m x 0,8m) instalados em viveiro de terra de 168 m² (renovação de água de 10 l/ s./ ha). Para evitar desovas, facilitar a captura e reduzir o estresse da despesca, foram colocados no primeiro tanque rede os machos, no segundo as fêmeas e no terceiro e quarto os revertidos.

Um dia antes da coleta das amostras, os peixes foram transferidos para aquários de vidro (1m x 0,4m x 0,6m) do laboratório de Citogenética, CCB/ UEL, para padronizar tempos de jejum na coleta. Os peixes foram anestesiados com benzocaína (3g/ 15l).

3.4. ANÁLISES CITOGENÉTICA, MORFOLÓGICA, METABÓLICA, HORMONAL E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL.

3.4.1. ANÁLISE CITOGENÉTICA

A técnica adotada para obtenção e visualização de cromossomos mitóticos (FORESTI *et al.*, 1993a) é descrita a seguir: a) retirar o rim cefálico ou o posterior, se o peixe for pequeno e colocar, em aproximadamente 6 ml de solução de Hanks, em uma placa de Petri; b) dissociar o material e retirar o sobrenadante com pipeta de Pasteur, colocando-o

em tubo de centrífuga; c) pingar uma gota de solução de colchicina 0,05%, com o auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta bem fina, ou seringa com agulha também fina; d) pipetar a solução cerca de 50 vezes, misturando bem o material, e levá-lo à estufa a 37°C por 15 minutos; e) centrifugar por 5 minutos a 800 rpm; f) desprezar o sobrenadante e completar o volume para 6 ml com KCl (solução hipotônica a temperatura ambiente) e ressuspender o material com pipeta Pasteur; g) levar novamente à estufa a 37°C por mais 30 minutos; h) pré-fixar com 6 gotas de metanol/ácido acético (3: 1), misturando o material de forma lenta e suave com pipeta Pasteur (evitando bolhas e movimentos bruscos); i) deixar o material descansar por 5 minutos; j) dobrar o volume da suspensão, no tubo, com fixador e pipetar adequadamente para misturar; k) centrifugar por 10 minutos e desprezar o sobrenadante, completando o volume para 6 ml com o fixador e misturando bem a solução com pipeta Pasteur; l) centrifugar por 7 minutos, repetindo essa lavagem por mais duas vezes; m) diluir o material até que se consiga uma suspensão de células não muito turva; n) pingar o material em lâminas calçadas em um suporte, em banho-maria a 60°C e deixar secar em suporte de lâminas, corando a seguir com uma solução de GIEMSA a 5 % em tampão fosfato (pH: 6,7), por mais 10 minutos.

As lâminas foram observadas em microscopia de luz e as melhores metáfases selecionadas para fotografia. Com auxílio de paquímetro e das fotos, obtiveram-se medidas do par cromossômico maior. Do grupo de peixes machos controles (MC), foi obtida a média das diferenças entre o cromossomo maior e menor do par cromossômico maior. Esta média serviu como padrão para a diferenciação cromossômica do grupo de revertidos (MM, macho que se mantém macho e FM, fêmea revertida para macho após a reversão sexual); uma vez que os indivíduos machos de tilápia do Nilo apresentam um heteromorfismo no par cromossômico maior, caracterizando provavelmente, um mecanismo cromossômico

sexual do tipo XX/XY nesta espécie. Se o peixe revertido apresentava média das diferenças entre cromossomos um valor maior ou igual ao dos machos controle, o indivíduo foi classificado como macho que se manteve macho (MM); por outro lado, se o valor fosse inferior à média dos machos controles, o peixe era classificado como fêmea revertida para macho (FM).

3.4.2. ANÁLISE MORFOLÓGICA

Foram realizadas inicialmente as seguintes medidas morfométricas: comprimento total (lado esquerdo), peso do corpo, peso das gônadas, peso do fígado e peso da hipófise. O índice hepato-somático (IHS), índice gonado-somático (IGS) e o índice hipófise-somático (IHipS) foram estimados através da relação entre o peso do órgão e o peso corporal (gramas) (x 100).

As lâminas de hipófise foram analisadas ao microscópio de luz (aumento de 10 x), acoplado ao sistema analisador de imagem Kontron Elektronik (Videoplan) para obtenção e medida das áreas da PPD (parte proximal distal da hipófise) e área total da hipófise. Posteriormente, foi calculada a correlação através da divisão da área da PPD pela área da hipófise. Sabe-se que na área PPD da hipófise estão localizadas a maior parte das células gonadotróficas.

A frequência de machos e fêmeas ao final da fase de alevinagem foi determinada no lote de tilápias do Nilo controles e revertidas, através da análise histológica das gônadas dos peixes. Foram coletados 15 indivíduos do lote controle e 15 de cada repetição do lote revertido. Devido ao tamanho e delicadeza das estruturas, as gônadas de cada exemplar

foram presas, com auxílio de um fio de sutura, em um pedaço de cartolina e em seguida fixadas em Bouim por 24 horas. Posteriormente os tecidos foram transferidos para o álcool etílico a 70 % até o processamento de rotina para desidratação e inclusão em parafina.

Fragmentos de fígado, gônadas e hipófise foram fixados em solução de Bouim por 24 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, os tecidos foram transferidos para o álcool etílico a 70 % até o processamento de rotina para desidratação e inclusão em parafina. Em seguida, o material foi cortado em micrótomo (7 μ m) e os cortes montados em lâminas esmeriladas. Os cortes de fígado e gônadas foram corados com hematoxilina e eosina e os de hipófise corados pela técnica de Tricrômico de Mallory.

Os cortes de fígado foram analisados ao microscópio de luz (aumento de 40x), acoplado ao sistema analisador de imagem Kontron Elektronik (Videoplan) para a análise morfométrica das células. Foram avaliados a área e volume do citoplasma e área e volume do núcleo. De cada lâmina examinada, foi feita a leitura de 30 células, e calculada a média dos valores obtidos para cada parâmetro, para 1 peixe, e posteriormente a média para o grupo de peixes.

Os cortes histológicos das gônadas permitiram a identificação dos testículos e ovários (sexo fenotípico) e também a identificação do estágio de maturação ovariana e/ou testicular, em que se encontravam os peixes.

3.4.3. ANÁLISE METABÓLICA E HORMONAL

Inicialmente foi coletado o sangue da veia caudal com o uso de seringa heparinizada dos peixes anestesiados pela benzocaína (3g/ 15 l de água). Posteriormente foram retirados 0,1 ml de sangue para a dosagem de glicose plasmática e o restante conservado resfriado em gelo por um período de até 4 horas para a centrifugação e obtenção do plasma. Para a determinação dos níveis plasmáticos de glicose foi utilizado o método colorimétrico de KING & GARNER (1947), que consiste em misturar a 1,8 ml de solução isotônica (sulfato de sódio e sulfato de cobre), 0,1 ml de sangue e 0,1 ml de solução de tungstato de sódio a 10 %. Após 10 min de centrifugação a 2.000 rpm., o sobrenadante era mantido em freezer a -20 °C para análise posterior, quando se adicionou 1 ml de reagente cúprico e 3 ml de arsenomolibídico. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm.

Para a determinação dos níveis de glicogênio hepático foi utilizado o método de antrona descrito por CARROL *et al.* (1956). Amostras de 0,5 g de tecido hepático foram colocadas em tubos de centrífuga com 2 ml de KOH a 30 % e depois hidrolizadas em banho-maria a 100 °C por 1 hora. Em seguida foram adicionadas 5 gotas de Na₂SO₄ saturado e 4,5 ml de álcool etílico a 95 %. Esta mistura foi agitada com bastão de vidro e em seguida levada a banho-maria quente, até iniciar pequena fervura. O bastão foi retirado, identificado e os tubos levados à centrífuga a 2.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspense com 2 ml de água aquecida e 4,5 ml de álcool etílico a 95 %. Após 4 lavagens, o precipitado foi ressuspense com 2 ml de água aquecida e completado para 10 ml de solução com água destilada. De acordo com a quantidade de glicogênio no tecido, diferentes volumes desta solução eram pipetados e completados com água destilada. Com o tubo de ensaio em água com gelo, foi adicionado lentamente 4 ml do

reagente de antrona dissolvido em H₂SO₄ a 95 %. As leituras das amostras, em absorbância, foram realizadas em espectrofotômetro a 620 nm.

A proteína total plasmática foi dosada pelo método de macrobiureto de acordo com GORNALL *et al.* (1949), utilizando-se 0,1 ml de plasma e 0,9 ml de água destilada. Em seguida, foi adicionado 4 ml do reagente de biureto. Após 30 min., foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro a 540 nm.

A extração do lipídeo total hepático foi feita através da técnica de BLIGH & DYER (1959). 500 mg de tecido hepático era homogeneizado em 5 ml da mistura de extração com solvente orgânico (clorofórmio e metanol, 2:1). Após a filtração do homogenado foi acrescentado água destilada na proporção de 5:1, agitado e centrifugado por 5 minutos a 1500 rpm para obtenção de camadas distintas, uma contendo a fração lipídica (clorofórmio) e a outra não lipídica (metanol). Através do isolamento da camada lipídica, cada amostra foi colocada em placas de Petri previamente pesadas e em seguida levadas a estufa à 100 °C por 1 hora para evaporação. A diferença entre os pesos das placas permitiu a realização dos cálculos para obtenção da porcentagem de lipídeo em cada amostra.

Através de técnica de radioimunoensaio foram dosados os níveis plasmáticos de estradiol, 17- α -hidroxiprogesterona e testosterona dos grupos de peixes controle e experimentais. Foram utilizados Kits da Diagnostic Products Corporation (DPC, Los Angeles, EUA) e o contador Gama do Laboratório do Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal, SP.

3.4.4. ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CORPORAL

Após coleta das amostras de sangue, rim cefálico, fígado, gônadas e hipófise os peixes foram embalados em sacos plásticos, identificados e conservados a - 20 °C até a moagem e obtenção das amostras.

Anteriormente à moagem, os peixes foram parcialmente descongelados, cortados em postas com auxílio de serra de açougueiro e moídos por duas vezes em máquina de moer carne. Após a segunda moagem foi coletada uma amostra de aproximadamente 20 g, em frascos com tampa previamente pesados em balança eletrônica. A cada moagem de um exemplar, a máquina era desmontada, lavada e enxuta.

A composição corporal das tilápias foi analisada quanto aos teores dos seguintes componentes:

1) Matéria seca (MS): O teor de matéria seca nos peixes foi determinado em 10 g de amostra. Esta amostra, em vidros tarados foi liofilizada. Após 48 horas, o material foi novamente pesado, obtendo-se a primeira MS, da seguinte forma:

$$1^{\text{a}} \text{MS} (\%) = (\text{PS}_1 \times 100) / \text{PU}_1$$

Onde: PS_1 = peso seco para obtenção da 1^a MS

PU_1 = peso úmido da amostra original

Para determinar a 2^a MS, foi pesado 1 g da amostra liofilizada, colocando-a em cadinho de porcelana previamente tarado, o qual foi levado à estufa a 105 °C, por 12 horas, sendo então, pesado novamente. Após a segunda pesagem, foi aplicada a seguinte fórmula:

$$2^{\text{a}} \text{MS} (\%) = (\text{PS}_2 \times 100) / \text{PU}_2$$

onde: PS_2 = peso seco para obtenção da 2^a MS

PU₂= peso úmido da amostra liofilizada

A matéria seca original (MSO) foi obtida, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{MSO (\%)} = (1^{\text{a}} \text{MS} \times 2^{\text{a}} \text{MS}) / 100$$

2) Proteína bruta: O teor de proteína foi determinado através do método de KJEDAHN (Association of Official Agricultural Chemistry, A.O.A.C.,1965). Este método avalia o teor de nitrogênio total contido na amostra; desta forma o nitrogênio presente nos aminoácidos será transformado em N amoniacal, através de processos de digestão e destilação, sendo em seguida titulado com ácido clorídrico. A porcentagem de proteína bruta foi calculada utilizando-se o fator de 6,25 e calculada da seguinte forma:

$$\text{PB (\%)} = (\text{ml} \times \text{N} \times 14 \times 6,25 \times 100) / \text{PA}$$

onde: ml = quantidade de HCl gasto na titulação

N = normalidade do HCl (0,1 N)

14 = peso atômico do nitrogênio

6,25 = fator de transformação para cálculo da proteína

PA = peso da amostra (100 mg)

3) Extrato Etéreo: Foi utilizado o método de WEENDE (A.O.A.C., 1965). 1 g da amostra liofilizada foi colocado na garrafa de Soxhlet e passado éter de petróleo pela amostra por 5 horas. O lipídio foi recolhido em um balão volumétrico previamente tarado, e calculado de acordo a seguinte fórmula:

$$\text{EE (\%)} = (\text{BG} - \text{B} \times 100) / \text{PA}$$

onde: BG = peso do balão + gordura

B = tara do balão

PA = peso da amostra

4) Cinzas ou Matéria Mineral: Foi utilizado o método de WEENDE (A.O.A.C., 1965), que consiste em colocar 1g da amostra em cadinho de porcelana previamente tarado, levado à mufla a 600°C, por 3 horas, para que a amostra seja incinerada. Para o cálculo da matéria mineral foi utilizada a seguinte fórmula:

$$MM(\%) = (TC - T \times 100) / PA$$

onde: TC = tara do cadinho + cinzas

T = tara do cadinho

PA = peso da amostra

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos dados utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Foram aplicados os seguintes modelos estatísticos para tratar os dados obtidos no presente experimento:

- 1) Regressão Linear: com a finalidade de procurar o modelo que melhor explique a correlação entre as variáveis na diferença entre os grupos de peixes;
- 2) Análise de variância: para verificar se realmente existem diferenças entre os grupos de peixes ;
- 3) Teste t de Student: para comparação entre dois grupos de peixes
- 4) Teste Student-Newman-Keuls (SNK): para comparação múltipla de grupos de peixe

Na primeira etapa experimental, devido ao pequeno número de repetições de tanques rede para as fases de reversão e alevinagem procedeu-se a uma análise descritiva dos dados (peso e comprimento corporal) e nas fases de cultivo de juvenis e engorda, cada tanque foi considerado uma unidade experimental (incrementos em peso e comprimento). Valores de $p < 0,05$ foi indicativo de diferenças estatisticamente significativas.

Na segunda etapa do presente estudo, assumimos que as características de solo, água, alimentação, ambiente e outras presentes em cada viveiro de cultivo, não interferiram nas variáveis estudadas. Sendo assim, sugerimos que as diferenças encontradas entre MC, FC, MM e FM, sejam devidas a diferenças existentes entre os grupos. Entretanto, acredita-se que a consolidação dos resultados obtidos nesta segunda etapa, somente é possível, a partir do momento que sejam obtidas amostras de machos e fêmeas controle e amostras de machos e fêmeas revertidos de vários viveiros de reprodução e engorda respectivamente e o experimento delineado em blocos ao acaso.

Foi utilizado o programa “Statística” para as análises de regressão linear e o programa Primer para as análises de variância, teste t de Student, e teste de Student Newman Keuls.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. PRIMEIRA ETAPA EXPERIMENTAL

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados das diversas biometrias realizadas na primeira etapa experimental. Foram realizadas 3 biometrias durante a fase de reversão sexual, 3 na alevinagem, 5 no cultivo dos juvenis e 4 na engorda.

Os peso e comprimento médios durante a fase de reversão sexual, para o grupo inicial que originou os grupos macho e fêmea e grupo revertido foram de 0,012 g e 0,98 cm. Após 28 dias de cultivo, o grupo de machos e fêmeas apresentou em média 0,33 g e 2,53 cm e o experimental 0,34 g e 2,65 cm.

Os pesos e comprimentos iniciais médios durante a alevinagem, para o grupo de machos e fêmeas foi de 1,00 g e 3,76 cm e para o grupo de revertidos de 0,97 g e 3,69 cm. Após 97 dias de cultivo, o grupo de machos e fêmeas apresentou em média 21,20 g e 10,83 cm, e o experimental 33,78 g e 12,59 cm.

Tabela 7. Fases experimentais, biometrias, datas, médias e desvios padrões do peso e comprimento dos grupos controles e dos grupos submetidos ao tratamento de reversão.

Fase Experimental	Biometria	Data	Peso (g) Controle*	Peso (g) Revertido	Comp. (cm) Controle*	Comp. (cm) Revertido
Reversão	1	12/12/9	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,98 ± 0,00	0,98 ± 0,00
		4				
	2	28/12/9	0,13 ± 0,08	0,13 ± 0,07	1,95 ± 0,34	1,99 ± 0,34
		4				
	3	10/01/9	0,33 ± 0,22	0,34 ± 0,25	2,53 ± 0,57	2,65 ± 0,58
		5				
Alevinagem	1	24/01/9	1,00 ± 0,16	0,97 ± 0,17	3,76 ± 0,12	3,69 ± 0,14
		5				
	2	10/03/9	6,93 ± 0,82	9,70 ± 2,74	7,28 ± 0,29	8,12 ± 0,71
		5				
	3	30/04/9	21,20 ± 5,60	33,78 ± 9,65	10,83 ± 0,99	12,59 ± 1,01
		5				
Cultivo de Juvenis	1	04/09/9	15,13 ± 4,52	15,60 ± 2,54	9,55 ± 0,95	9,64 ± 0,52
		5				
	2	24/10/9	56,72 ± 17,10	59,11 ± 11,46	13,89 ± 1,4	14,19 ± 0,85
		5				
	3	21/11/9	93,70 ± 28,49	93,07 ± 23,22	16,84 ± 1,51	16,95 ± 1,35
		5				
	4	19/12/9	116,20 ± 41,34	116,03 ± 31,33	18,53 ± 2,03	18,61 ± 1,58
		5				
	5	16/01/9	124,73 ± 44,65	139,46 ± 37,37	18,91 ± 2,09	19,75 ± 1,80
		6				
Engorda	1	18/01/9	152,57 ± 28,87	155,30 ± 18,29	20,60 ± 1,22	20,81 ± 0,82
		6				

		28,87	18,29		0,82
2	15/02/9	237,32 ±	244,79 ±	22,95 ± 1,19	23,15 ±
	6	37,37			0,93
3	26/03/9	344,88 ±	356,91 ±	25,62 ± 1,44	25,87 ±
	6	62,31	65,02		1,20
4	26/04/9	376,81 ±	396,40 ±	27,05 ± 1,47	27,44 ±
	6	61,87	64,71		1,43

Controle*: machos e fêmeas para as fases de reversão, alevinagem e cultivo de juvenis e machos sexados para a fase de engorda.

No cultivo de juvenis os peixes apresentaram na biometria inicial para o grupo de machos e fêmeas média de peso e comprimento de 15,13 g e 9,55 cm, e o grupo revertido valores de 15,60 g e 9,64 cm. Ao término da fase, as tilápias apresentaram para o grupo controle e experimental, respectivamente, valores de 124,73 g e 18,91 cm e 139,46g e 19,75 cm.

Na fase de engorda, os machos sexados apresentaram na biometria inicial, médias de peso e comprimento de 152,57 g e 20,60 cm e o grupo de peixes revertidos valores de 155,3 g e 20,81 cm. Ao final da engorda, os peixes controles e revertidos apresentavam, respectivamente, valores de 376,81 g e 27,05 cm e 396,4 g e 27,44 cm.

O nível de proteína bruta na ração usado para as tilápias durante a fase de reversão, alevinagem e cultivo de juvenis (32 % de PB.) e na fase de engorda (28 % de PB.) foi suficiente para um bom desempenho dos peixes, pois de acordo com BROWN *et al.* (1997) juvenis de *Oreochromis niloticus* (macho e fêmea, peso inicial de 20 gramas) demonstraram a necessidade de concentração mínima de proteína bruta de 26 %.

O incremento de peso e comprimento dos peixes, para as 4 fases experimentais, em cada tanque rede controle ou experimental pode ser visto na Tabela 8 e nas Figuras 5, 6, 7 e 8.

Na reversão sexual, os peixes do tanque rede recebendo ração sem hormônio (controle) apresentaram incremento de peso e comprimento de 0,31 g e 1,55 cm. Os três tanques rede contendo peixes recebendo ração com hormônio apresentaram média e desvio padrão de $0,33 \text{ g} \pm 0,06$ e $1,70 \text{ cm} \pm 0,17$ para o incremento de peso e em comprimento. Devido a ausência de repetições do grupo controle não foi possível uma análise estatística dos dados. Entretanto, percebe-se que os peixes revertidos sexualmente apresentaram maior valor que o grupo de peixes machos e fêmeas (Fig. 5).

Na alevinagem, o tanque rede contendo peixes machos e fêmeas apresentou incremento de peso e comprimento de 20,20 g e 7,08 cm, respectivamente. Os três tanques rede contendo tilápias revertidas apresentaram média e desvio padrão de $28,45 \text{ g} \pm 1,03$ e $8,59 \text{ cm} \pm 0,14$ para o incremento de peso e comprimento. Da mesma forma que na fase de reversão sexual, pela ausência de repetições do grupo controle não foi possível a análise estatística dos dados, mas percebe-se que os peixes revertidos apresentaram maior valor que os peixes machos e fêmeas (Fig. 6).

Tabela 8. Fases experimentais, número dos tanques rede, grupos experimentais e incrementos de peso e comprimento.

Fase Experimental	Número do Tanque rede	Grupo de Peixes	Incremento de Peso (g)	Incremento de Comp. (cm)
Reversão	TR 1	Macho e Fêmea	0,31	1,55
	TR 2	Revertido	0,26	1,49
	TR 3	Revertido	0,36	1,82
	TR 4	Revertido	0,37	1,69
Alevinagem	TR 1	Macho e Fêmea	20,20	7,08
	TR 2	Revertido	27,28	8,43
	TR 3	Revertido	28,84	8,70

	TR 4	Revertido	29,22	8,64	
Cultivo de Juvenis	TR 4	Macho e Fêmea	97,94	8,70	
	TR 6	Macho e Fêmea	118,88	9,90	
	TR 7	Macho e Fêmea	127,98	10,11	
	TR 9	Macho e Fêmea	93,88	8,88	
	TR 11	Macho e Fêmea	111,05	9,50	
	TR 2	Revertido	140,47	10,64	
	TR 3	Revertido	126,99	10,12	
	TR 5	Revertido	114,34	9,95	
	TR 8	Revertido	121,96	9,84	
	TR 12	Revertido	115,05	9,82	
	Engorda	TR 3	Macho Sexado	220,52	6,23
		TR 4	Macho Sexado	230,64	6,39
TR 6		Macho Sexado	217,76	6,33	
TR 7		Macho Sexado	253,98	6,90	
TR 9		Macho Sexado	205,20	5,97	
TR 11		Macho Sexado	217,82	6,85	
TR 1		Revertido	265,14	6,93	
TR 2		Revertido	241,76	6,91	
TR 5		Revertido	224,88	6,29	
TR 8		Revertido	217,80	6,68	
TR 10		Revertido	225,82	6,32	
TR 12		Revertido	249,84	6,72	

A análise de variância revelou não existir diferenças para o incremento de peso e comprimento para as fases de cultivo de juvenis e engorda ($p < 0,05$).

Ao final da fase de alevinagem, a frequência de machos e fêmeas foi determinada através da análise microscópica das gônadas de 15 indivíduos do lote controle e 45 indivíduos do lote experimental. Para o grupo controle foi obtido 40 % de fêmeas e 60 % de machos. Para o grupo experimental obteve-se 93,3 % de machos e 6,7 % de fêmeas. De acordo o teste do Qui-Quadrado, para $p < 0,05$, houve diferença significativa entre a frequência de indivíduos machos e fêmeas, confirmando a ocorrência de reversão sexual.

O efeito de esteróides exógenos, como a 17- α -metiltestosterona, no processo de indução da reversão de sexo em tilápias, tem sido estudado por diversos pesquisadores (CARVALHO, 1985; POPMA & GREEN, 1990; AFONSO *et al*, 1992,1993; HIOTT & PHELPS, 1993; APPEL & LEBOUTE, 1995; MACHADO & CARRATORE, 1996; GALVEZ & MORRISON, 1996; RIBEIRO DIAS *et al*, 1996; POPMA & LOVSHIN,

1996; FITZPATRICK *et al.*, 1997). A partir destes trabalhos, estabeleceu-se que quando administrados em doses e tempos corretos, tais hormônios induzem a diferenciação gonadal para machos.

PANDIAN & SHEELA (1995) relacionam as vantagens e as limitações dos métodos mais comumente utilizados na reversão sexual de peixes. Segundo estes autores, a administração do hormônio na dieta é o método mais comumente utilizado, apresenta custo baixo e requer pequena qualificação técnica do piscicultor produtor de alevinos.

Como limitações do método, PANDIAN & SHEELA (1995) afirmam que os hormônios podem sofrer degradação no trato digestivo; a pureza dos hormônios pode variar de acordo o fabricante; a solubilidade dos hormônios depende do tipo de solvente utilizado; pode não ocorrer uniformidade da distribuição do hormônio no alimento; a hierarquia social entre os peixes pode levar a um diferencial na captação dos alimentos e conseqüentemente na ingestão do hormônio; tratamentos intensivos crônicos podem resultar em esterilidade dos peixes ou reversão sexual paradoxal (reversão sexual para o sexo oposto ao desejado). Segundo os mesmos autores o período para a diferenciação sexual, na reversão sexual em ciclídeos, está em torno de 10 a 30 dias de vida dos peixes. Acredita-se que as larvas destinadas à reversão sexual, no presente estudo, apresentaram idade inferior a 12 dias, pois foram descartadas larvas com tamanho superior a 11 mm e, segundo POPMA & GREEN (1990), larvas com 11 mm de comprimento normalmente apresentam em torno de 8 dias de vida.

Segundo VINATÉIA (1995), o período de incubação dos ovos de tilápia do Nilo na boca das fêmeas dura em torno de 60 a 72 horas. Depois da eclosão dos ovos, as fêmeas transportam as larvas por mais 5 a 8 dias, fase em que ocorre a absorção do saco vitelino. Após este período, a fêmea deixa escapar as larvas de sua boca e as mesmas formam

pequenos cardumes que acompanham os movimentos lentos da mãe. Estas características biológicas nos permitem sugerir que o método de coleta contínuo de larvas e posterior descarte de larvas maiores que 11 mm, utilizado no presente estudo, é eficaz para a reversão sexual na tilápia do Nilo.

Neste sentido, acredita-se que seja de importância que o produtor de alevinos de tilápia revertida seja informado da necessidade de coleta frequente de larvas (3 vezes por semana) e do processo de classificação. O método de coleta contínuo de larvas é muito utilizado no Paraná, embora a maior parte dos piscicultores não realizem a seleção das larvas. Acredita-se que a não seleção comprometa a eficiência da reversão sexual, pois larvas com tamanho e idade não adequadas para a diferenciação sexual podem estar sendo utilizadas para a reversão sexual.

Reversão Sexual

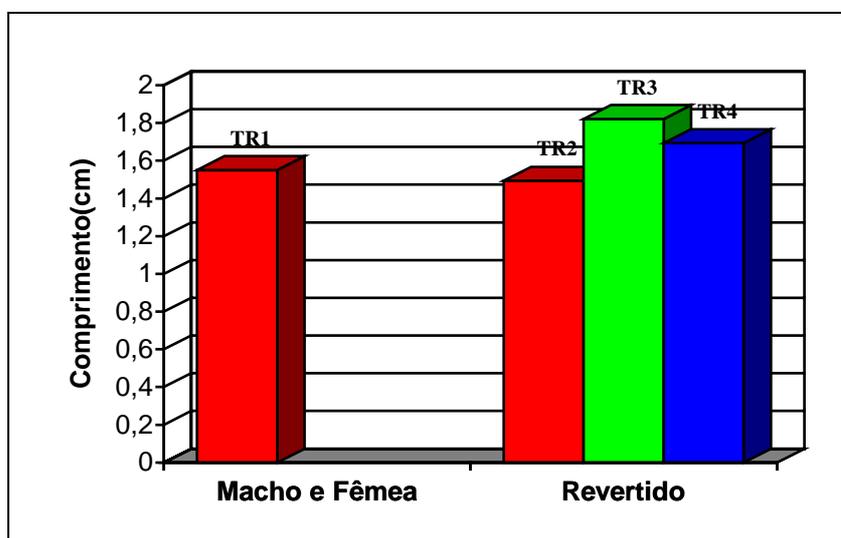
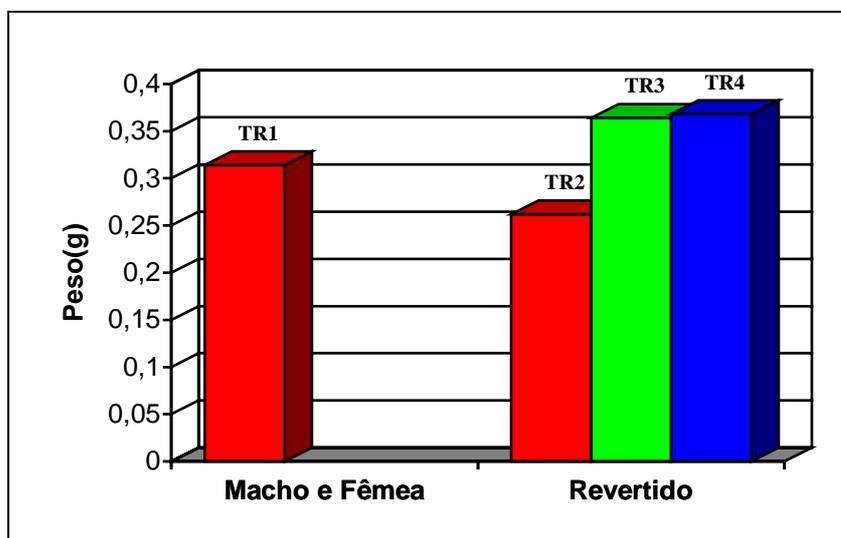


Figura 5. Incremento médio de peso e comprimento do grupo de machos e fêmeas e das repetições dos grupos de revertidos, durante a fase de reversão sexual. (TR_n: número do tanque rede)

Alevinagem

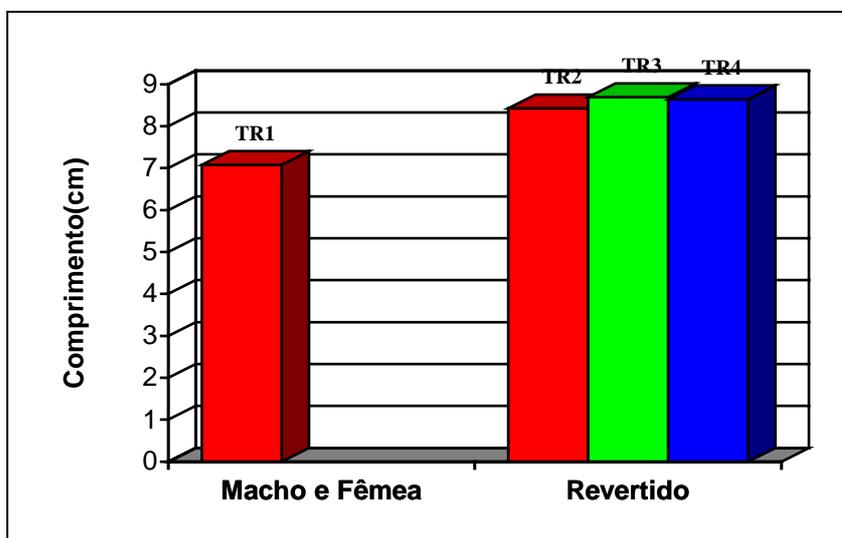
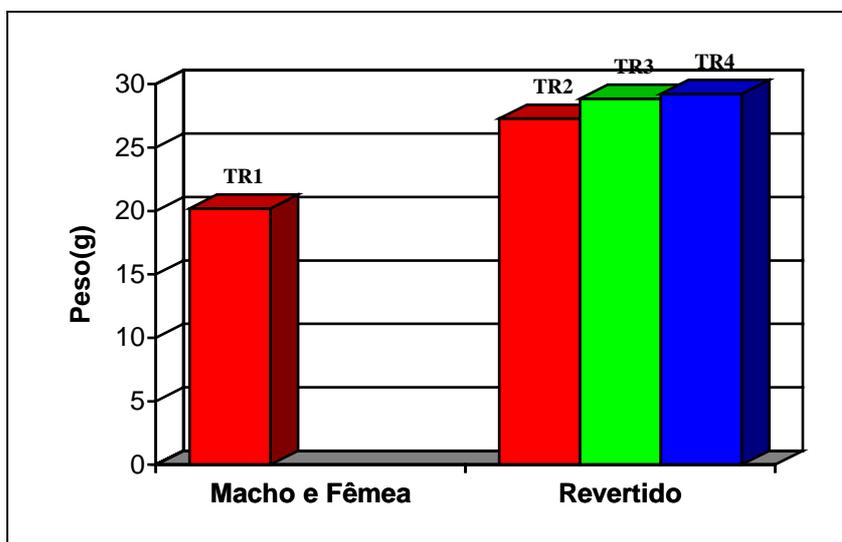


Figura 6. Incremento médio de peso e comprimento do grupo de machos e fêmeas e das repetições dos grupos de revertidos, durante a fase de alevinagem (TR_n: número do tanque rede).

De acordo com PANDIAN & SHEELA (1995), a potência dos andrógenos mais comumente utilizados na reversão sexual pode ser colocada na seguinte ordem: mibolona > etiniltestosterona > metiltestosterona > testosterona. O acetato de trembolona (TBA) promoveu efetivamente a reversão sexual em larvas de *Oreochromis aureus* (GALVEZ & MORRISON, 1996). Segundo Neumann (1976, In: GALVEZ & MORRISON, 1996) a atividade anabólica e androgênica, em mamíferos, do TBA é de 5 a 10 vezes maior que a do propionato de testosterona e o TBA apresenta atividade anabólica 50 vezes superior à da testosterona. De acordo com Rossof (1974, In: GALVEZ & MORRISON, 1996), o hormônio 17- α -metiltestosterona (MT) apresenta a metade da atividade androgênica do propionato de testosterona. Neste sentido, GALVEZ & MORRISON (1996) discutem que o TBA é mais potente que a MT e que altas taxas de reversão sexual (98,3 a 99,3 %) foram obtidas devida a atividade antigonadotrópica e antiestrogênica do TBA.

A taxa de reversão sexual obtida no presente estudo (93,3 % de machos) apresentou valor próximo aos encontrados por HIOTT & PHELPS (1993). Estes autores encontraram taxas de 95,7 % para larvas com comprimento inferior a 11 mm, tratadas por um período de 28 dias com doses de 60 mg/kg do hormônio 17- α -metiltestosterona (MT). VERA CRUZ & MAIR (1994), utilizando metodologia similar, em diferentes meios de cultivo e diferentes densidades de cultivo, obtiveram taxas de reversão com a tilápia do Nilo que variaram de 95,4 % a 99,4 %. Também RIBEIRO DIAS *et al.* (1996), utilizando berçários de madeira cercados com tela de nylon, nas doses de 30 e 60 mg/kg de MT na ração produziram mais de 95 % de indivíduos monossexos machos. FITZPATRICK *et al.* (1997) adicionaram 60 mg de MT/ Kg na dieta de tilápia do Nilo e obtiveram taxas de 92 % de machos. Do mesmo modo, RODERICK *et al.* (1997) afirmam que a reversão sexual com o hormônio MT em tilápia produz em torno de 95 % de machos.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), o percentual de machos, após o tratamento com o hormônio 17- α -metiltestosterona, frequentemente fica acima de 95 %, mas ocasionalmente podem ocorrer percentuais de 80 a 90 %. As razões para essas ocasionais reduções na taxa de reversão ainda não são claramente entendidas, mas o tamanho/ idade adequados para o início do tratamento bem como um crescimento muitas vezes acelerado (peso final acima de 0,7 g) são causas prováveis. Esse crescimento rápido, resultado de uma combinação de alta temperatura e boa qualidade da ração, podem induzir a larva a passar muito rapidamente pela estreita janela da susceptibilidade da reversão sexual.

Pesquisando fatores que afetam a reversão sexual com andrógenos na *Tilápia aurea*, SHELTON *et al.* (1981) demonstraram que a duração do tratamento hormonal com larvas de uma determinada idade é o fator mais crítico para o sucesso da reversão. Entretanto, fatores que influenciam a taxa de crescimento dos peixes durante a reversão são também de grande importância, segundo estes pesquisadores.

Os resultados encontrados por CARVALHO (1985) revelaram que nas larvas de tilápias do Nilo cultivadas em laboratório e submetidas a doses de 30 mg/kg do hormônio 17- α -metiltestosterona, por 40 e 60 dias de tratamento, não foram encontradas alterações nos testículos e a frequência de machos na reversão foi de 100 %. Porém, já com outras doses e tempos de tratamentos (30 mg por 20 dias; 50 mg por 20, 40 e 60 dias e 100 mg por 20, 40 e 60 dias), foram encontradas alterações morfológicas nos testículos dos machos, com a presença de ovo-testis, aumento do tecido intersticial e do tecido fibroso do testículo e, ainda, a presença de fêmeas com ovários mostrando desorganização estrutural. Para CARVALHO (1985), o excesso de andrógeno metabolizado para estrógeno atuaria nas células primordiais indiferenciadas e induziria o aparecimento do ovo-testis nos intersexos.

A análise microscópica das gônadas das tilápias, ao final da fase de alevinagem, no presente estudo, revelou que os peixes apresentavam gônadas em estágios iniciais de maturação. Foi possível também verificar certa desorganização tecidual nas gônadas de alguns indivíduos submetidos ao tratamento de reversão sexual. Possivelmente, alguns peixes com desorganização no tecido gonadal poderiam se tornar intersexos quando adultos. Entretanto, em função do estágio de desenvolvimento gonadal dos peixes, quando da análise, não foi possível determinar o percentual de intersexo presente.

Segundo GALVEZ & MORRISON (1996), peixes intersexos contendo tecido testicular e ovariano são de ocorrência natural em várias espécies de ciclídeos, incluindo a *Oreochromis spp.* Na reversão sexual de larvas de *Oreochromis aureus*, estes autores obtiveram taxas de 1 % de intersexo para o grupo controle, 7 % para os grupos de larvas tratadas com metiltestosterona e 0,7 a 1,3 % para as larvas tratadas com acetato de trembolone. Estes autores afirmam que a metiltestosterona aumenta a frequência de intersexo em populações de tilápias sexo revertidas.

Segundo PANDIAN & SHEELA (1995), a quantidade de hormônio utilizado no tratamento hormonal na reversão sexual em peixes influencia nos percentuais de intersexualidade e esterilidade encontrados após a reversão. Em geral, doses hormonais sub-ótimas resultam em maiores taxas de intersexo, doses ótimas em maiores taxas de monosexo, e doses super-ótimas, de longa duração, em altas taxas de peixes estéreis.

As alterações teciduais encontradas no presente estudo, nas gônadas de alguns indivíduos submetidos ao tratamento de reversão sexual, estão de acordo com os resultados obtidos por CARVALHO (1985). É possível que a dose de 60 mg/kg e a duração do tratamento para as condições experimentais deste estudo, não tenha sido totalmente efetiva, resultando em taxas de 93,3 % de machos.

AFONSO *et al.* (1992) pesquisaram a reversão sexual da tilápia do Nilo através de tratamentos de imersão após a eclosão, utilizando 17- α -metiltestosterona. O tratamento de imersão alterou significativamente a proporção dos sexos, resultando em 89,5% de fêmeas. Efeito paradoxal feminizante com a *Tilápia mossambica* foi também descrito por NAKAMURA (1975) com 17- α -metiltestosterona na dose de 1.000 mg/kg na ração. HACKMAN & REINBOTH (1974) constataram o efeito feminilizante em tratamentos com altas doses de 17- α -metiltestosterona e afirmaram que o hormônio exógeno, em excesso, é metabolizado para estrógeno, provocando a feminilização de indivíduos geneticamente machos.

De acordo com POPMA & GREEN (1990), durante a reversão sexual, a masculinização da papila genital pode ocorrer antes da masculinização das gônadas e, conseqüentemente, o peixe que ingeriu uma dose sub-efetiva de hormônio pode, externamente, parecer macho mas, internamente, pode se desenvolver como fêmea, com ovários, ou ainda se desenvolver como ovo-testis. A análise histológica das gônadas dos peixes adultos revertidos sexualmente, ao final da engorda, na segunda etapa do presente estudo, revelou a inexistência de peixes com papila urogenital de macho e apresentando ovário. No entanto, de acordo com observações pessoais, em alguns lotes de tilápia sexo revertidas foram observados ao final da engorda, peixes apresentando papila urogenital de macho e ovários hipertrofiados com ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento e grande quantidade de líquido ovariano.

No cultivo de juvenis, os 5 tanques rede contendo tilápias machos e fêmeas apresentaram um incremento médio de 109,74 g \pm 13,90 em peso e 9,42 cm \pm 0,62 em comprimento. Os 5 tanques rede contendo tilápias revertidas apresentaram incremento médio em peso e comprimento de 123,76 g \pm 10,70 e 10,07 cm \pm 0,34 (Tab. 8, Fig. 7).

Percebe-se uma diferença entre médias em peso de 14,02 g e uma diferença em comprimento de 0,65 cm, sendo que as tilápias revertidas apresentaram um incremento de peso 11,32 % superior ao obtido pelas tilápias machos e fêmeas. A análise de variância para as médias de incremento de peso e comprimento revelou a inexistência de diferenças significativas para $p < 0,05$, entre os grupos.

Na engorda, os 6 tanques rede contendo tilápias macho sexadas apresentaram incremento médio de $224,29 \text{ g} \pm 16,64$ em peso e $6,45 \text{ cm} \pm 0,36$ em comprimento e os 6 tanques rede contendo tilápias revertidas valores de $237,46 \text{ g} \pm 17,99$ e $6,64 \text{ cm} \pm 0,28$, respectivamente (Tab. 8, Fig. 8). Percebe-se uma diferença em peso de 13,17 g e em comprimento de 0,19 cm. Sendo assim, as tilápias revertidas apresentaram um incremento de peso 5,54 % superior ao obtido pelas tilápias machos. A análise de variância das médias de incremento de peso e comprimento de cada tanque rede revelou a inexistência de diferenças significativas para $p < 0,05$, entre os grupos.

O incremento diário em peso e comprimento para o grupo de tilápias revertidas foi superior quando comparado ao dos controles durante todas as quatro fases de cultivo (Tab. 9). O grupo controle apresentou incremento médio para as quatro fases de cultivo, de 1,05 g/ dia e o grupo revertido 1,11 g/ dia. Estes valores estão próximos aos obtidos por outros autores, entretanto nas comparações deve ser considerada a densidade de cultivo, o ambiente de cultivo, o regime alimentar e outros fatores que possam interferir neste parâmetro.

Cultivo dos Juvenis

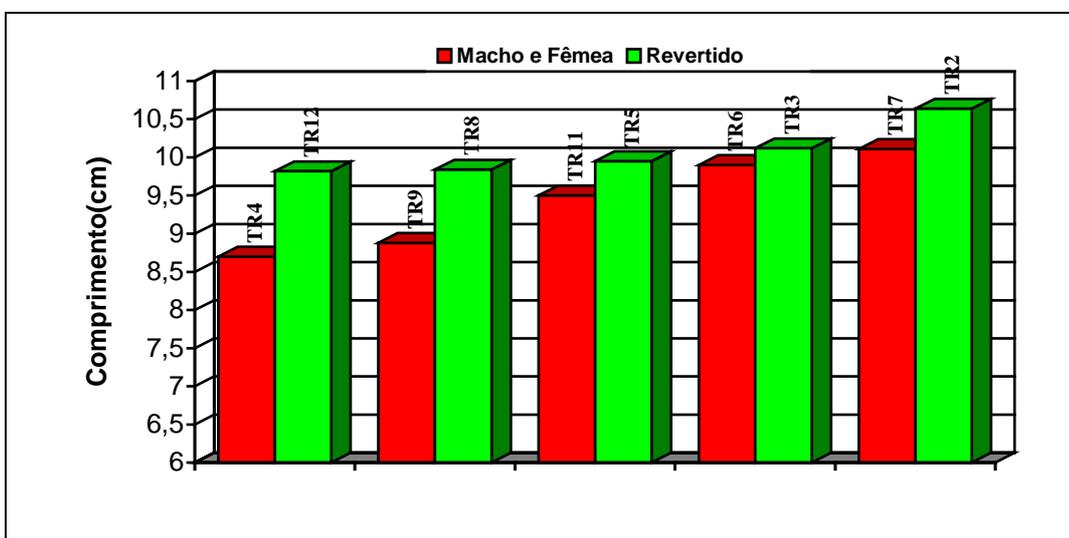
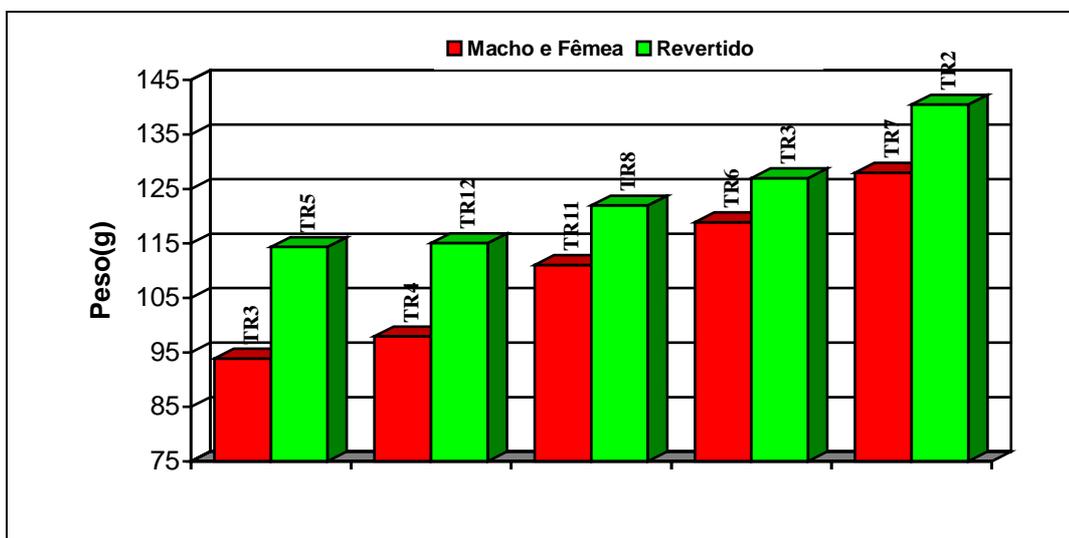


Figura 7. Incremento médio de peso e comprimento das repetições dos grupos de machos e fêmeas e dos grupos revertidos, durante a fase de cultivo dos juvenis (TR_n: número de tanque rede).

Engorda

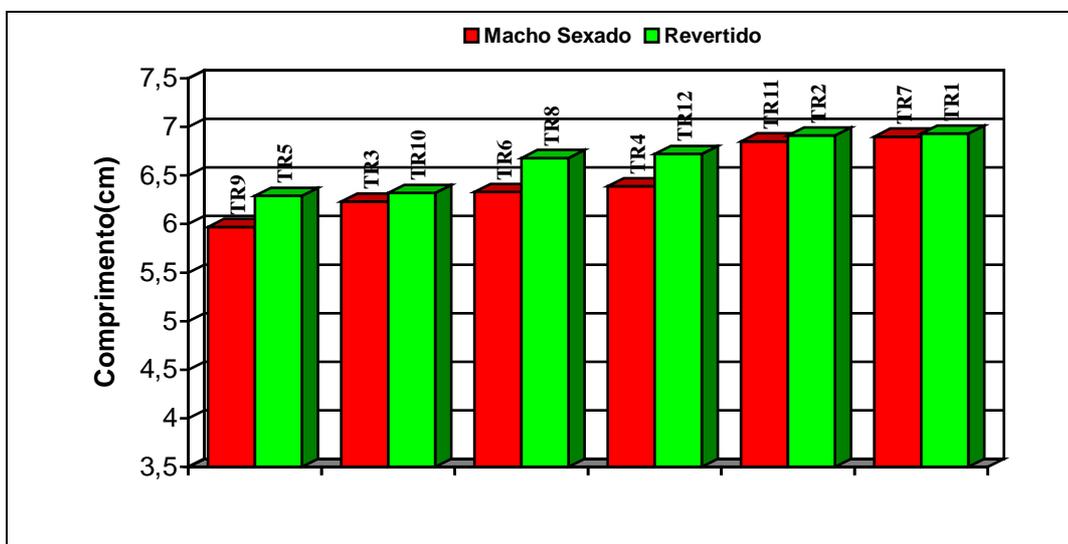
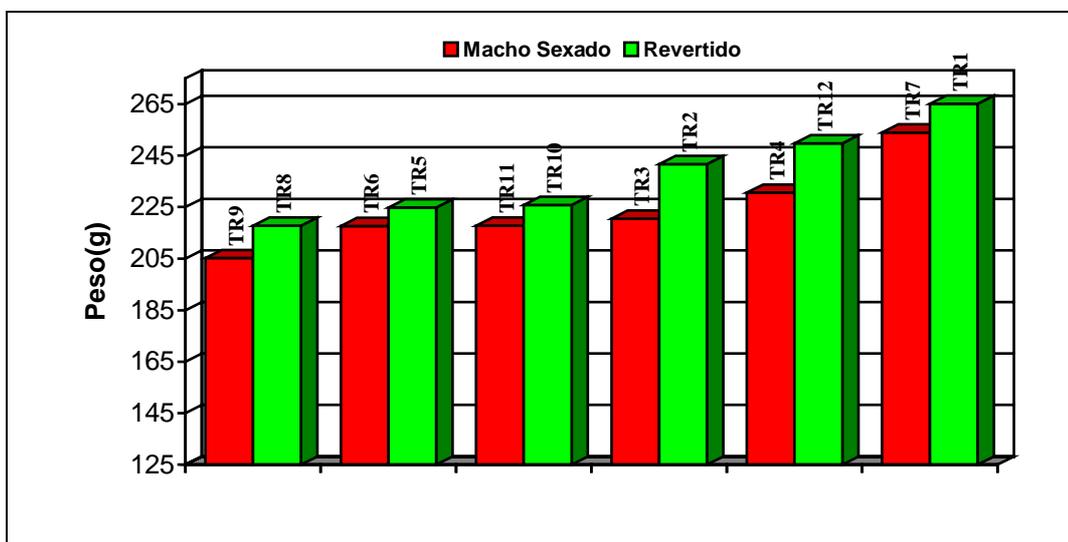


Figura 8. Incremento médio de peso e comprimento das repetições dos grupos de machos sexado e dos grupos revertidos, durante a fase de engorda (TR_n: número de tanque rede).

Tabela 9. Fases experimentais, dias de cultivo, grupos de peixes, peso (g) e comprimento (cm) iniciais e finais e incremento diário em peso (g/dia) e em comprimento (cm/dia).

Fase	Dias de Cultivo	Grupo	Peso Inicial	Peso Final	Comp. Inicial	Comp. Final	Incr. em Peso	Incr. em Comp.
Reversão	28	Controle*	0,01	0,33	0,98	2,53	0,01	0,06
		Revertido	0,01	0,34	0,98	2,65	0,01	0,06
Alevinagem	97	Controle	1,00	21,20	3,76	10,83	0,21	0,07
		Revertido	0,97	33,78	3,69	12,59	0,34	0,09
Cultivo de Juvenis	134	Controle	15,13	124,73	9,55	18,91	0,82	0,07
		Revertido	15,60	139,46	9,64	19,75	0,92	0,08
Engorda	99	Controle	152,57	376,81	20,60	27,05	2,27	0,07
		Revertido	155,30	396,40	20,81	27,44	2,44	0,07
Total	358	Controle	0,01	376,81	0,98	27,05	1,05	0,07
		Revertido	0,01	396,40	0,98	27,44	1,11	0,07

Controle*: macho e fêmea para as fases de reversão, alevinagem e cultivo de juvenis e machos sexados para a fase de engorda.

MAINARDES PINTO (1985) observou, em cultivo intensivo e em tanques de alvenaria, incremento de peso de 2,11 g/ dia para as tilápias do Nilo machos e de 1,05 g/dia para as fêmeas da mesma espécie. ABALOS (1997), em cultivo intensivo de tilápia do Nilo, obteve incremento de peso que variou de 0,5 a 0,7 g/ dia. HANLEY *et al.* (1997), em altas densidades de cultivo de tilápias híbridas machos vermelhas, *Oreochromis spp*, obtiveram incrementos em peso de 2,91 g/ m²/ dia com peso final de 251,7 g.

CODA (1996) em tilápia do Nilo obteve incrementos médios diários de 2,0 g/ dia em densidades de 3 peixes/ m² e incrementos de 1,23 g/ dia na densidade de 5 peixes/ m². BOLL (1994), em policultivo com tilápias do Nilo, obteve, para uma densidade de 1652 ind./ ha, incremento de 1,70 g/ dia, e na densidade de 3.304 ind./ ha incremento de 1,08

g/dia. LOVSHIN *et al.* (1974), com híbridos de *Tilápia hornorum x Tilápia nilótica*, na densidade de 10.000 exemplares/ ha, observou um incremento médio de 1,5 g/ dia. LOVSHIN (1977), com machos de *Oreochromis niloticus* na densidade de 1 peixe/ m², obteve um incremento médio de 1,3 g/ dia, o mesmo que Cantelmo (1980, In: CODA, 1996) em policultivo com híbridos de tilápia em tanque rede, Aguiar E Leon (1978, In: MAINARDES PINTO, 1985), com tilápia do Nilo, na densidade de 11 peixes/ m², obtiveram taxa de incremento de 0,45 a 0,57 g/ dia..

Os exemplos citados acima confirmam a importância do espaço e da alimentação no cultivo intensivo de tilápias. Segundo WEATHERLEY & GILL (1987), o peixe cresce rapidamente quando o alimento e o espaço são satisfatórios e o crescimento é lento quando um ou outro fator está escasso. O crescimento de peixes em viveiros é a expressão, entre outros fatores, da disponibilidade e qualidade das fontes de alimento natural e suplementar disponíveis no meio de cultivo. Assim, as variações verificadas no crescimento diário podem servir como medida das mudanças ocorridas no viveiro e no grau em que o crescimento dos peixes é afetado por estas mudanças (Sarig, 1991; In: BOLL, 1994).

Durante a fase de engorda, foram obtidos os maiores valores para o incremento diário em peso e comprimento (Tab. 9), sendo de 2,27 g/ dia para os 6 tanques rede com tilápias macho sexados e de 2,44 g/ dia para os 6 tanques rede com tilápias revertidas. Maior valor de incremento nesta fase é esperado, pois os peixes apresentam maior peso corporal e normalmente ingerem maior quantidade de ração. Diante destes resultados, pode-se sugerir que a densidade de cultivo, a qualidade da água e a qualidade da dieta alimentar, dentre outros fatores, foram adequados no presente estudo, e não limitaram o crescimento e ganho de peso dos peixes.

Ao final da engorda, os peixes atingiram peso médio de 376,81 g para a população de machos sexado e de 396,40 para as tilápias sexo revertidas (Tab. 9). Tilápias com peso médio próximo de 400 g são consideradas de bom valor comercial para a indústria filetadora paranaense. Sendo assim, os peixes do presente estudo apresentaram peso final compatível com o desejado por muitos piscicultores em sistemas de cultivo em tanques rede.

Maior peso corporal e maior crescimento de tilápias do Nilo sexo revertidas para machos foram encontrados por TAYAMEN & SHELTON, (1978); HANSON *et al.* (1983); PEZZATO (1984); CARVALHO (1985); LAURE *et al.* (1986); VARADARAY & PANDIAN (1991) e VERA CRUZ & MAIR (1994).

HANSON *et al.* (1983), em cultivo de tilápia do Nilo e híbridos em tanques rede (152 peixes/ m²), demonstraram que a tilápia do Nilo sexo revertida apresentou maior crescimento que os outros grupos pesquisados. Em tanques de terra (2 peixes/ m²), a população revertida sexualmente e os machos de tilápia do Nilo apresentaram maior crescimento que os grupos de híbridos e de fêmeas. Segundo estes pesquisadores, o tipo do andrógeno e a dosagem utilizada na reversão sexual são fatores determinantes para o aumento na taxa de crescimento das tilápias sexo revertidas. Afirmam, também, que os grupos de tilápia do Nilo tratados com a 17- α -metiltestosterona aparentemente utilizam mais eficientemente o alimento consumido.

Segundo PANDIAN & SHEELA (1995), os ciclídeos revertidos sexualmente com hormônios apresentam crescimento de uma a duas vezes mais rápido que grupos controle. Afirmam, também, que a reversão sexual praticada em peixes, em países tropicais, pode ser de grande vantagem, pois normalmente altas temperaturas da água do cultivo, favorecem o rápido crescimento dos sexo revertidos.

Segundo POPMA & GREEN (1990), muitos fatores relacionados ao sexo fenotípico e genotípico do peixe determinam a taxa de crescimento. A importância relativa de cada fator, de acordo estes pesquisadores, ainda não é totalmente conhecida para a tilápia do Nilo. POPMA & LOVSHIN (1996) afirmam que o crescimento da tilápia é influenciado por fatores genéticos, quantidade e qualidade do alimento, qualidade da água, temperatura da água, sexo, idade, doenças e densidade de estocagem.

O efeito anabolizante do hormônio 17- α -metiltestosterona pode ser considerado como uma possibilidade para explicar o melhor desempenho das tilápias sexo revertidas para machos. Neste sentido, FAGERLUND & MCBRIDE (1975) sugerem que o anabolismo do andrógeno se manifestaria por melhor digestão e assimilação dos alimentos ou por uma mudança na regulação gênica. Complementando tal hipótese, YAMAZAKI (1976) afirma que o tratamento androgênico aumenta a taxa de digestão e de absorção dos alimentos, decorrente de um acréscimo na atividade das proteases digestivas. Para FAGERLUND & DYE (1979), o hormônio 17- α -metiltestosterona em pequenas doses é um potente promotor de crescimento em salmonídeos, capaz de estimular o apetite e melhorar a conversão alimentar dos peixes tratados.

A biomassa final média em peixes, para os 6 tanques rede, durante a engorda das tilápias macho sexados, foi de 6,97 kg. Para os 6 tanques rede com tilápias revertidas obteve-se 7,59 kg. Sendo assim, foi obtida uma produção de 0,87 kg/ m² para o grupo controle e uma produção de 0,94 kg/ m² para o grupo revertido. MAINARDES PINTO (1985) mostrou com o cultivo intensivo de machos de tilapia do Nilo e híbridos de *O. hornorum* x *O. niloticus*, produção final em torno de 1,4 kg/ m² e produção de 0,7 kg/ m² para as fêmeas de *O. niloticus*. ABALOS (1997), em cultivo intensivo de tilápia do Nilo, obteve produção 18,7 a 27,0 kg/ m². POPMA & LOVSHIN (1996), por sua vez, relatam

produtividade com tilápias de 50 a 300 kg/ m³, em tanques rede com eficiente troca de água e remoção dos excretas.

Em viveiros de terra para cultivo de tilápia do Nilo, sem aeração, é comum produtividade de 1,0 a 1,5 kg/ m² na região Norte do Paraná. CODA (1996), nas densidades de 3 e 5 tilápias/ m², obteve produtividade final variando de 1,3 a 1,8 kg/ m² em viveiros de terra. Acredita-se, portanto, que a produtividade final obtida no presente estudo seja inferior à capacidade máxima de suporte dos tanques rede.

Durante o período mais frio do ano de 1995, ou seja, de 30/04/95 a 04/09/95, os peixes não foram manejados, em função do risco de mortalidade devido a baixas temperatura da água (Fig. 9). Para POPMA & LOVSHIN (1996), o manuseio da tilápia do Nilo pode causar doenças, que geralmente levam a mortalidade, se feito à temperaturas abaixo de 16 °C. A conduta tomada no presente estudo pode ser considerada correta, pois nos meses de maio, junho, julho e agosto a temperatura da água se manteve em média com valores que variaram de 15,9 a 16,9 °C (Fig. 9). A ausência de manejo dos peixes neste período pode ser considerado um fator que contribuiu para a baixa taxa de mortalidade.

A temperatura média da água durante a fase de reversão foi de 25,7 °C, na fase de alevinagem de 24,8 °C, cultivo de juvenis de 23,5 °C e engorda de 24,4 °C. LUND & FIGUEIRA (1989) afirmam que a tilápia do Nilo se adapta melhor em viveiros onde a temperatura da água se mantém entre 18 a 28 °C. Enquanto CASTAGNOLLI (1992) descreve melhor desempenho para a tilápia do Nilo com a temperatura da água entre 26 e 28 °C. Já para POPMA & LOVSHIN (1996), a temperatura ideal para o crescimento de tilápias está em torno de 29 a 31 °C e caso os peixes sejam alimentados até a saciação, o crescimento nesta faixa de temperatura é três vezes maior que a 22 °C. O máximo de alimento consumido a 22 °C é apenas 50 a 60 % do máximo consumido a 26 °C.

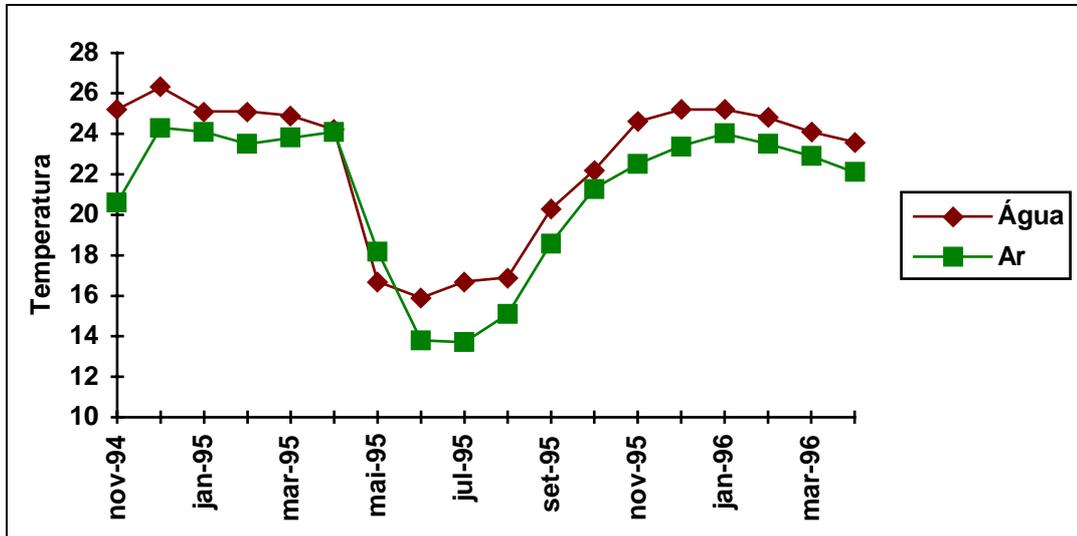


Figura 9. Médias mensais de temperatura (°C) da água e do ar, avaliadas diariamente às 9:00 e 17:00 horas.

Apesar das quatro fases do cultivo terem sido realizadas em temperaturas de água inferiores às consideradas ideais para o máximo de crescimento, acredita-se que as obtidas neste estudo estão dentro da faixa de conforto térmico (18 a 31 °C) para a espécie, permitindo bom desempenho dos peixes, com valores diários de incremento de peso e em comprimento expressivos nas quatro fases do cultivo (Tab. 9).

Ao final de cada fase, foram calculadas as taxas de mortalidade. Sendo assim, o grupo controle, ao longo das quatro fases, apresentou taxa média de mortalidade de 7,5 % e o grupo revertido taxa média de 5,9 %. A análise de variância para as taxas de mortalidade nas 4 fases de cultivo, revelou um valor de F crítico estatisticamente não significativo, para $p < 0,05$, quando comparado o grupo controle com o revertido (Tab. 10).

Tabela 10. Fases experimentais, datas, grupos de peixes, população de peixes inicial, população de peixes final e taxas de mortalidade.

Fase Experimental	Data	Grupo	População Inicial	População Final	Taxa de Mortalidade(%)
Reversão	10/01/95	Controle*	1960	1759	10,2
		Revertido	5880	5421	7,8
Alevinagem	30/04/95	Controle	72	66	8,3
		Revertido	216	199	7,9
Juvenil	16/01/96	Controle	375	360	4,0
		Revertido	375	355	5,3
Engorda	26/04/96	Controle	119	110	7,6
		Revertido	119	116	2,5

Controle*: macho e fêmea para as fases de reversão, alevinagem e juvenil e machos sexados para a fase de engorda.

Durante a fase de reversão sexual foram encontradas taxas de mortalidade de 10,2 % para o tanque rede contendo as larvas recebendo a dieta sem hormônio e de 7,8 % para os três tanques rede com larvas recebendo a dieta com o hormônio. Os valores encontrados neste estudo podem ser considerados similares quando comparados a taxas obtidas em alguns trabalhos com reversão sexual (TAYAMEN & SHELTON, 1978; ALCAZAR, 1988; AFONSO *et al.*, 1993b e GALVEZ & MORRISON, 1996) e baixos quando comparados aos valores obtidos por outros pesquisadores (PEZZATO, 1984; GUILHERME, 1990 e LITTLE *et al.*, 1995).

Segundo TAYAMEN & SHELTON (1978), as taxas de mortalidade em tilápia do Nilo controle e revertidas sexualmente foram uniformemente baixas e variaram de 1,5 % a 8,8 %. ALCAZAR (1988) descreveu taxas que variaram de 2,60 a 4,25 %, AFONSO *et al.*

(1993) de 0 a 9 % e GALVEZ & MORRISON (1996) de 1,5 %. Por outro lado, PEZZATO (1984) encontrou taxas de mortalidade de 33,90 %. Altas taxas (53,05 %) também foram verificadas por GUILHERME (1990) com o uso da mesterolona e por LITTLE *et al.* (1995) que relatou 51,6 % de mortalidade média na reversão sexual de larvas de tilápia do Nilo Tailandesa. Para PANDIAN & SHEELA (1995), em geral o tratamento envolvendo esteróides sintéticos na reversão sexual em peixes, resulta em altas taxas de mortalidade.

Acredita-se que a metodologia utilizada no presente estudo seja pouco estressante para a larvas, pois as mesmas normalmente são capturadas quando apresentam movimentos natatórios, saco vitelino absorvido e ingerindo alimentos naturais. Desta forma, estas larvas apresentam maior resistência ao manejo, maior resistência contra parasitas e infecções, e em função da ingestão de alimento natural, melhor balanceamento nutricional da dieta inicial, o que resulta normalmente em menores taxas de mortalidade, como observado no presente estudo.

Durante as fases de alevinagem, cultivo de juvenis e engorda foram encontradas taxas de mortalidade que variaram de 2,5 % a 8,3 % (Tab. 10). LEBOUTE *et al.* (1993), utilizando de machos revertidos de tilápia do Nilo, em tanques rede na região Sul do Brasil, encontraram taxas em torno de 7 %. ABALOS (1997), em tilápia do Nilo obteve de 0 a 4 %, e CODA (1996) valores de 7,16 % a 9,2 %.

Acredita-se que as taxas de mortalidade de tilápia do Nilo sejam dependentes da densidade de cultivo, alimentação, fertilização, quantidade e qualidade da água, prevenção de parasitas e doenças e eliminação de predadores. As taxas de mortalidade obtidas no atual experimento revelam que todos estes fatores foram controlados nas quatro fases do cultivo.

A análise química da água revelou que o oxigênio dissolvido durante a fase de reversão sexual na primeira biometria apresentava valores de 4,45 ppm, na segunda 3,83

ppm e na terceira 3,84 ppm. A amônia (NH_3) se manteve por toda a fase em 0,03 ppm. A alcalinidade, na primeira biometria, apresentava valores de 48,60 mg de CaCO_3 , na segunda 86,40 mg e na terceira 97,20 mg. Desta forma, todos os valores encontrados para o oxigênio dissolvido, amônia e alcalinidade durante a fase de reversão sexual se mantiveram dentro de faixa considerada normal.

Durante as fases de alevinagem, cultivo de juvenis e engorda não foram realizadas análises químicas da água. Esta conduta foi tomada devido ao conhecimento de que a população de peixes instalada nos tanques rede era menor que a capacidade máxima de suporte do ambiente. A hipótese de que a qualidade de água se manteve dentro de limites considerados satisfatórios pode ser comprovada pelas baixas taxas de mortalidade e pelos bons índices de incremento diário em peso e comprimento obtidos para as quatro fases experimentais.

A constante b , o fator de condição alométrico (K) e as expressões matemáticas para a relação peso/comprimento encontram-se na Tabela 11. Durante as quatro fases experimentais foi obtido para b o valor médio de 3,26 no grupo controle e 3,09 no grupo de peixes revertidos. O maior valor de b (3,69) foi verificado para o grupo controle durante a fase de reversão sexual e o menor (2,88) para o grupo controle, durante a fase de alevinagem (Tab. 11).

A maior diferença encontrada entre os grupos controle e experimental foi observada na fase de reversão sexual. Sendo assim, o grupo controle apresentou valor de b de 3,69 e o grupo de peixes revertidos valor de 2,98. Portanto, é possível sugerir que as larvas tratadas com ração com hormônio apresentou proporcionalmente maior incremento de peso do que em comprimento. Possivelmente, o fator mais importante para esta diferenciação na relação

peso/comprimento tenha sido a presença do hormônio na dieta estimulando maior desenvolvimento dos tecidos corporais e armazenamento de gordura na carcaça dos peixes.

Durante a fase de engorda, a média do grupo controle (machos sexados) apresentou valor de b de 3,39, enquanto o grupo de tilápias revertidas valor de 3,43. EL ZARKA *et al.* (1970), estudando a tilápia do Nilo, em ambientes naturais encontrou valores de b de 3,076, enquanto VERANI (1980), com a mesma espécie em cultivo intensivo, encontrou valores de b variando de 2,78 a 3,02. Já MAINARDES PINTO (1985) constatou valores de 2,96 a 3,12 e MAINARDES PINTO & PAIVA (1977) 3,03 para os machos e 2,92 para as fêmeas de *Tilápia rendalli*. MELLO *et al.* (1979), para a mesma espécie, em tanque rede, obtiveram 3,2.

O valor de b de acordo LE CREN (1951) pode variar entre 2,5 a 4,0. O coeficiente b normalmente difere entre espécies mas, às vezes, dentro da mesma espécie, frequentemente entre “stanças” (estágios de desenvolvimento da espécie) ou graças a variações ambientais e condições nutricionais (Bagenal & Tesch, 1978; Wlodek & Skora, 1985; In: SÁ, 1989). Segundo WOOTTON (1990), o valor de b igual a 3,0 indica um crescimento isométrico e valor maior ou menor que 3,0, crescimento alométrico. Assim, valor maior que 3,0 mostra que o peixe tornou-se mais leve, por causa do incremento de comprimento, e valor menor que 3,0 indica que ele tornou-se mais pesado, por causa do incremento de peso. Na Tabela 11 pode ser observado um aumento dos valores de b para os grupos controles e experimentais desde a fase de alevinagem até a fase de engorda. Estes resultados nos permite afirmar que a tilápia apresenta diferentes estágios de desenvolvimento corporal e com o avançar da idade os peixes se tornaram mais leves devido ao maior incremento de comprimento, não sendo observadas diferenças entre os grupos controles e experimentais.

Tabela 11. Fases experimentais, grupos de peixes, constante relacionada ao crescimento dos peixes (b), fator de condição alométrico médio (K), expressões matemáticas das relações peso total (Wt)/ comprimento total (Lt) e o coeficiente de correlação (r).

Fase	Grupo	b	K	Wt = a. Lt ^b	lnWt = ln a + b.lnLt	r
Reversão	Controle	3,69	1,60	Wt = 0,0160.Lt ^{3,69}	lnWt = -4,53+3,69.lnLt	1,000
	Revertido	2,98	1,52	Wt = 0,0152.Lt ^{2,98}	lnWt = -4,02+2,98.lnLt	1,000
Alevinagem	Controle	2,88	1,50	Wt = 0,0150.Lt ^{2,88}	lnWt = -3,80+2,88.lnLt	1,000
	Revertido	2,90	1,49	Wt = 0,0149.Lt ^{2,90}	lnWt = -3,80+2,90.lnLt	1,000
Juvenil	Controle	3,06	1,49	Wt = 0,0149.Lt ^{3,06}	lnWt = -4,14+3,06.lnLt	0,996
	Revertido	3,03	1,42	Wt = 0,0142.Lt ^{3,03}	lnWt = -4,07+3,03.lnLt	0,997
Engorda	Controle	3,39	1,44	Wt = 0,0144.Lt ^{3,39}	lnWt = -5,20+3,39.lnLt	0,993
	Revertido	3,43	1,40	Wt = 0,0140.Lt ^{3,43}	lnWt = -5,34+3,43.lnLt	0,992

A análise de regressão linear revelou um $p < 0,05$ para todas as equações da reta.

O valor do fator de condição alométrico (K) apresentou algumas variações entre os grupos e entre as biometrias das diferentes fases de cultivo (Tab. 11, Tab. 12 e Fig. 10). Neste sentido, os valores do fator de condição variaram de 1,29 a 1,86. A média dos valores obtidos para K para o grupo controle (1,49) foi similar à média do grupo experimental (1,45). Os valores de K obtidos no presente estudo são inferiores aos obtidos por outros pesquisadores (CODA, 1996; MAINARDES PINTO, 1985). Entretanto, sabe-se que estes pesquisadores obtiveram estes valores para peixes cultivados em viveiros de terra, portanto em condições ambientais diferenciadas do presente estudo. Estes resultados nos permitem sugerir que o “bem estar geral dos peixes” cultivados em tanques rede seja inferior aos peixes cultivados em viveiros de terra, embora o uso de tanques redes na piscicultura seja uma prática de uso comum e resultar em altas produtividades e grande retorno financeiro.

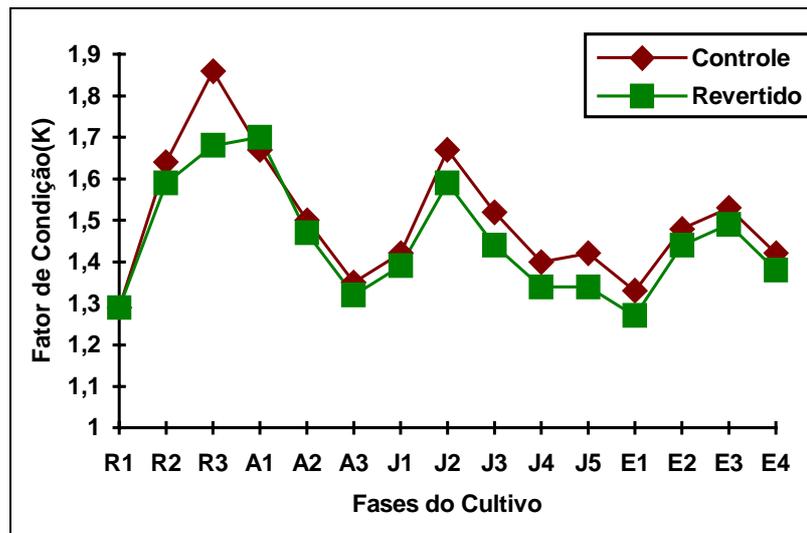


Figura 10. Fator de condição alométrico médio para os grupos controle e revertido, durante as 4 fases experimentais. Reversão (R1 a R3), alevinagem (A1 a A3), cultivo de juvenis (J1 a J5) e engorda (E1 a E4).

CODA (1996), em cultivo intensivo de tilápia do Nilo, obteve, para o fator de condição alométrico (K), valores que variaram de 2,0 a 2,19. MAINARDES PINTO (1985), com *Oreochromis niloticus* encontrou valores de K variando de 1,98 a 2,33. Segundo BRUTON & ALLANSON (1974), quando a disponibilidade de alimento é baixa, o fator de condição geralmente é baixo. Trabalhando com *Tilápia mossambica*, no lago Sibaya, África, esses autores verificaram que os valores mais altos coincidiram com os meses mais quentes, quando os peixes, geralmente, encontravam maior disponibilidade de alimento. DÓRIA & LEONHARDT (1993) observaram diminuição dos valores de K nos meses mais frios do ano. Acredita-se que a temperatura da água, no presente trabalho, não tenha interferido nas variações do K, entretanto, deve ser considerado que no período mais frio do experimento, não foram realizadas biometrias e assim não foram calculados os valores de K.

Tabela 12. Fases experimentais, biometrias e fatores de condição alométrico para os grupos controle e revertido.

Fase Experimental	Biometria	Fator de Condição dos Grupos Controle	Fator de Condição dos Grupos Revertido
Reversão	1	1,29	1,29
	2	1,64	1,59
	3	1,86	1,68
Alevinagem	1	1,67	1,70
	2	1,50	1,47
	3	1,35	1,32
Juvenil	1	1,42	1,39
	2	1,67	1,59
	3	1,52	1,44
	4	1,40	1,34
	5	1,42	1,34
Engorda	1	1,33	1,27
	2	1,48	1,44
	3	1,53	1,49
	4	1,42	1,38

Segundo WEATHERLEY (1987), K fornece indicações do grau de atividade alimentar de uma espécie, verificando se ela está ou não fazendo bom uso da fonte alimentar. De acordo com BRAGA (1986), o fator de condição fornece indicações do estado de bem estar do peixe. Para VAZZOLER (1996), o fator de condição é um indicador quantitativo do grau de higidez, possibilitando relações com condições ambientais e aspectos comportamentais da espécie. No presente estudo, observou-se certa uniformidade na variação dos valores mensais do fator de condição (Fig. 10) para os grupos controles e experimentais, não sendo observadas alterações marcantes durante as quatro fases do

experimento. Isto sugere que as condições alimentares e ambientais e conseqüentemente o “bem estar dos peixes” foram similares para os grupos controles e experimentais.

4.2. SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL

4.2.1. ANÁLISE CITOGENÉTICA

A análise das metáfases mitóticas de *Oreochromis niloticus* sugerem que a espécie apresenta $2n = 44$ cromossomos. Foi observado no presente experimento um leve heteromorfismo no par cromossômico maior dos indivíduos machos desta espécie, caracterizando provavelmente, um mecanismo cromossômico sexual do tipo XX/XY. Para avaliar esse provável heteromorfismo cromossômico sexual, foram feitas medidas do par sexual. Do grupo de peixes machos controle (MC) foi obtida a média das diferenças entre o cromossomo maior e menor (0,0725 cm, Tab. 13, Fig. 11). Esta média serviu como padrão para a diferenciação cromossômica do grupo de revertidos (MM e FM).

Sendo assim, se o peixe revertido apresentava média das diferenças entre cromossomos, um valor maior ou igual ao dos machos controle, o indivíduo era classificado como macho que se manteve macho (MM); por outro lado, se o valor fosse inferior à média dos machos controle, o peixe era classificado como fêmea revertida para macho (FM).

Tabela 13. Valores médios dos cromossomos do provável par sexual, índice gonado-somático, índice hepato-somático, índice hipófise-somático, correlação área da PPD/área da hipófise de machos controle (MC), fêmeas controle (FC); machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para macho (FM).

MC	FC	MM	FM	F	GL	p <	C.V.
----	----	----	----	---	----	-----	------

Diferença entre Cromossomos	0,0725 ^{AB} ± 0,0480	0,0473 ^{BC} ± 0,0342	0,0933 ^A ± 0,0448	0,0405 ^C ± 0,0264	14,16	102	0,000	70,8
Índice Gonado-Somático	0,64 ^B ± 0,22	3,81 ^A ± 0,93	0,41 ^B ± 0,26	0,41 ^B ± 0,44	106,18	44	0,000	23,7
Índice Hepato-Somático	1,63 ^A ± 0,15	0,93 ^B ± 0,18	1,51 ^A ± 0,40	1,34 ^A ± 0,33	9,88	44	0,000	22,2
Índice Hipófise-Somático	0,66 ^B ± 0,10	0,80 ^A ± 0,18	0,53 ^C ± 0,11	0,40 ^D ± 0,10	20,47	44	0,000	20,6
Área PPD/Área da hipófise	0,098 ^B ± 0,020	0,126 ^A ± 0,026	0,108 ^{AB} ± 0,016	0,098 ^B ± 0,023	3,21	32	0,036	16,4

Médias e desvios padrões

Letras iguais: diferenças não significativas; letras diferentes: diferenças significativas (p<0,05 ao Teste de S.N.K.).

Das 34 tilápias adultas revertidas e em fase final de engorda foi possível a identificação e análise das metáfases mitóticas de 26. Desta maneira, dividiu-se o lote de 26 indivíduos revertidos sexualmente para macho em dois grupos: o grupo MM contendo 14 tilápias e apresentando médias de diferenças de 0,0933 cm e o grupo FM contendo 12 tilápias e médias de diferenças de 0,045 cm. Submetidas à mesma análise, as fêmeas controle (MC) apresentaram médias de diferenças de 0,0473 cm. A análise de variância dos dados revelou diferenças significativas entre os 4 subgrupos de peixes (Tab. 13, Fig. 11).

Com o teste de Student-Newman-Keuls ficou demonstrado que os machos revertidos para machos (MM) não diferem dos machos controle (MC) e o mesmo ocorre para as fêmeas (FC = FM). O grupo MM é estatisticamente diferente ($p < 0,05$) do FM (Fig. 11), o que reforça a sistemática adotada para a diferenciação dos grupos de peixes revertidos.

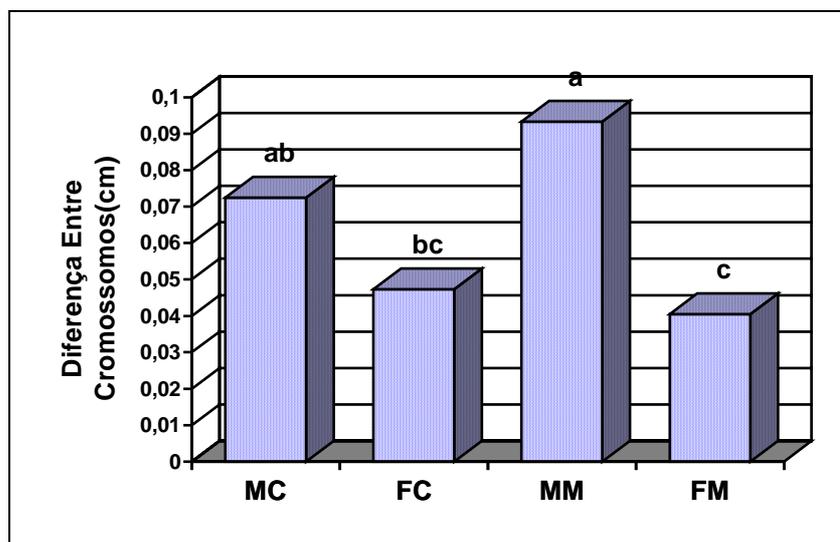


Figura 11. Diferenças entre o cromossomo maior e menor (cm) do provável par sexual de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

É sabido, atualmente, que a quase totalidade dos grupos de mamíferos apresenta heterogametia citológica do tipo XX/XY, o que é uma forte indicação de que esse mecanismo se desenvolveu nos primeiros passos da diferenciação dos mamíferos. Da mesma maneira, o sistema de heterogametia citológica feminina do tipo ZZ/ZW está comumente distribuído entre as aves. Desta forma, tanto no primeiro como no segundo caso, a heterogametia citológica parece ser uma condição já estabelecida entre os representantes desses diferentes grupos (GALETTI, 1984).

Entre os peixes, no entanto, a heterogametia citológica parece ser bastante incipiente e os dados citológicos catalogados deste grupo têm evidenciado uma diversidade de condições, observando-se vários exemplos de heterogametia masculina e feminina, de sistemas simples e múltiplos, ao lado de outros, inclusive em maior número, homogaméticos (GALETTI, 1984).

Os peixes constituem então, um dos grupos mais favoráveis para estudos genéticos, citogenéticos e evolutivos, por apresentarem uma série de características biológicas peculiares e por ocuparem uma posição central na evolução dos vertebrados (CARVALHO, 1991).

Os estudos de seleção e melhoramento genético em peixes tem grande significado em aquicultura porque visam aumentar o grau de domesticação e eficiência dos sistemas de cultivo. Sua atuação se dá principalmente no controle do sexo e da reprodução, quando se procura selecionar aspectos quantitativos como: a) produção de peixes de maior tamanho; b) melhoria da taxa de crescimento; c) aumento da resistência à doenças; d) aumento da sobrevivência e conversão alimentar e e) retardo ou prevenção da maturação sexual. (CARVALHO, 1991).

NIJJHAR *et al.* (1983) encontraram para a tilápia do Nilo 44 cromossomos ($2n = 44$) e sugeriram um mecanismo de determinação de sexo do tipo ZZ/ZW. Os machos foram considerados homogaméticos (ZZ) e as fêmeas heterogaméticas (ZW). MIREs (1977) assumiu que as fêmeas de *Tilápia nilotica* são homogaméticas baseado em experimentos de hibridação. Da mesma forma, Jalabert *et al.* (1974, In: NIJJHAR *et al.*, 1983) em testes de progênie realizados em *Tilápia nilotica* sexo revertidas, demonstraram que as fêmeas desta espécie são homogaméticas.

Recentemente, MAIR *et al* (1991), através de estudos de reversão sexual, ginogênese e triploidia em *Oreochromis niloticus*, observaram que esta espécie apresenta uma heterogametia masculina. A análise do complexo sinaptonêmico (SC) em espermatócito de *Oreochromis niloticus*, por FORESTI *et al* (1993_b) revelou todos os 22 bivalentes cromossômicos completamente emparelhados, exceto pela ocorrência de um heteromorfismo na região terminal do bivalente maior, associado com a presença de um segmento parcialmente emparelhado, durante o processo sináptico. A ocorrência de um par heteromórfico em espermatócitos de *Oreochromis niloticus* parece sugerir a existência de um mecanismo sexual do tipo XX/XY nesta espécie.

Duas hipóteses foram sugeridas por FORESTI *et al.* (1993_b) para explicar a posição dos genes relacionados ao sexo. Na primeira, estes genes poderiam estar localizados na porção terminal do eixo do CS maior (cromossomo Y) sem correspondência no cromossomo X. Numa segunda hipótese, os genes relacionados ao sexo poderiam estar localizados subterminalmente no bivalente maior da região não homóloga, visualizada claramente em espermatócitos durante o paquíteno, sob microscopia eletrônica. A diferença em tamanho entre os dois cromossomos poderia então ser devido ao polimorfismo estrutural não relacionado à diferenciação sexual.

No presente estudo foi observada a ocorrência de um leve heteromorfismo no par cromossômico maior em indivíduos machos de *Oreochromis niloticus*. Tal característica também foi observada em indivíduos que receberam tratamento hormonal com esteróide masculinizante. Sendo assim, foi feita uma medida do par cromossômico maior em várias metáfases dos indivíduos machos controle, sendo observada entre eles uma nítida diferença. Porém, em algumas metáfases, devido a condensação dos cromossomos, este heteromorfismo não foi tão evidente.

Segundo CALHOUN & SHELTON (1983), a teoria monogenética simples para a determinação do sexo em tilápia do Nilo não pode ser aceita. Segundo estes pesquisadores outros fatores (autosômicos ou gonosômicos) podem estar presentes na determinação do sexo desta espécie. MAJUMDAR & McANDREW (1983), estudando híbridos intraespecíficos e interespecíficos e 5 espécies puras de tilápia, dentre elas a tilápia do Nilo, demonstraram que mecanismos poligênicos e/ou multialélicos estão envolvidos no controle do sexo em tilápias.

4.2.2. ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Nas análises morfológica, metabólica, hormonal e de composição corporal foram utilizadas 20 tilápias adultas obtidas de um viveiro de reprodução e 34 tilápias adultas revertidas sexualmente, obtidas de um viveiro de engorda.

As médias de peso e comprimento total do grupo MC foram de 647,4 g e 33,2 cm, enquanto o grupo FC apresentou valores de 312,1 g e 26,7 cm. PANDIAN & SHEELA (1995); POPMA & LOVSHIN (1996) e MBAHINZIREKI & DABROWSKI (1997) afirmam que normalmente as fêmeas de tilápia do Nilo crescem menos que os machos. Esta afirmativa está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

O grupo MM apresentou médias de peso e comprimento de 434,1 g e 28,8 cm, enquanto que o grupo FM valores de 385,2 g e 27,5 cm. Acredita-se que o grupo MM apresente ganho em peso similar ao grupo FM. Esta afirmativa está de acordo com os relatos de POPMA & GREEN (1990).

Segundo POPMA & GREEN (1990), quando a tilápia revertida sexualmente atinge o tamanho de mercado, não há distribuição bimodal evidente (dois grupos de tamanho

distintos), como ocorre em cultivo de sexos misturados. Muitos fatores relacionados ao sexo fenotípico e genotípico do peixe determinam a sua taxa de crescimento. A importância relativa de cada fator ainda não é totalmente conhecida, mas o efeito bruto é que, para todos os propósitos práticos, fêmeas genéticas, revertidas sexualmente para machos fenotípicos, crescem tanto quanto machos normais.

A análise de variância dos índices gonado-somático (IGS) revelou, para $p < 0,05$, que as médias entre os grupos eram diferentes. O teste de Student-Newman-Keuls (S.N.K.) demonstrou que o grupo FC apresenta gônadas mais pesadas que os outros três grupos (MC, MM e FM) que, por sua vez, não diferiram entre si (Tab. 13 e Fig. 12).

Em função da estreita relação entre o processo de maturação gonadal e o aumento de peso deste órgão, a relação gonado-somática (RGS), segundo VAZZOLER (1996), expressa a porcentagem que as gônadas representam do peso total dos indivíduos e pode ser considerado um indicador eficiente do estado funcional das mesmas. Nas fases finais do desenvolvimento ovocitário, verifica-se um marcado aumento do peso dos ovários.

As fêmeas controle (FC) permaneceram separadas dos machos controle (MC) nos tanques rede por um período de três semanas que antecedeu à coleta de material. Em função do IGS obtido para as fêmeas, é possível afirmar que neste período não ocorreu desovas, e que foi suficiente para permitir o total desenvolvimento do ovário destes peixes, o que foi comprovado pela análise histológica.

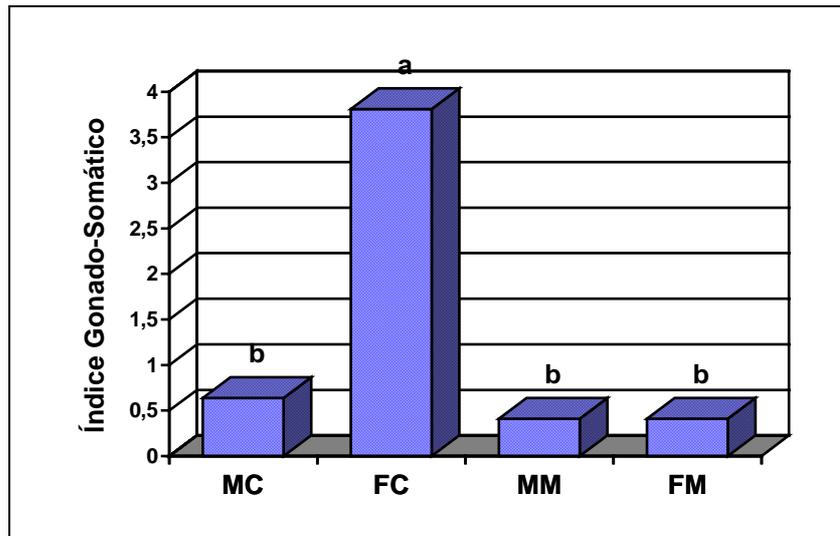


Figura 12. Índice gonado-somático (%), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

O grupo de tilápias FC apresentou IGS de 3,81 e os grupos MC, MM e FM valores de 0,64; 0,41 e 0,41, respectivamente. LESLIE & SMITHERMAN (1983) encontraram para fêmeas tilápia do Nilo valores que variaram de 1,6 a 4,0, e para os machos valores entre 0,4 a 1,0.

Pesquisando o efeito do tratamento crônico com a 17- α -metiltestosterona em juvenis de channel catfish, SIMONE (1990) demonstrou que este hormônio não alterou o IGS dos peixes machos e fêmeas. A análise histológica das gônadas revelou uma aceleração do processo de maturação testicular nos peixes machos e nenhuma alteração ovariana nas fêmeas.

De acordo com VERA CRUZ & MAIR (1994) o IGS, embora menor no grupo de tilápias do Nilo revertidas sexualmente, não apresentou diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle. Estes pesquisadores afirmam que a redução e/ou ausência de

fêmeas nos viveiros de tilápias revertidas suprimiu o desenvolvimento das gônadas dos peixes sexo revertidos. Acredita-se que situação similar tenha ocorrido no presente estudo.

A análise estatística dos resultados de índice hepato-somático (IHS) demonstrou diferenças significativas entre os grupos. Aplicando o teste S.N.K., o fígado do grupo FC mostrou-se mais leve que o dos outros três grupos (MC, MM e FM), que por sua vez, não diferiram entre si (Tab. 13 e Fig. 13).

O grupo FC apresentou IHS de 0,93, enquanto os grupos MC, MM e FM valores de 1,63; 1,51 e 1,34, respectivamente. EL-DAHLAR (1997), estudando tilápias do Nilo de 250 g, encontraram IHS de 2,9. Já SILVA *et al.* (1991) trabalhando com juvenis de tilápias vermelhas (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*), de 20 gramas, encontraram valores de IHS que variaram de 1,39 a 7,4.

SIMONE (1990) demonstrou uma atividade hepatotrófica em tratamento crônico com 17- α -metiltestosterona em channel catfish. Doses de 1 e 5 mg/kg promoveram aumento significativo do IHS. Respostas similares foram obtidas em truta arco-íris por HIROSE & HIBIYA (1968). Por outro lado, LONE & MATTY (1980) observaram uma redução dos IHS em carpas tratadas com o mesmo hormônio. Segundo SIMONE (1990), é possível que a resposta hepatotrófica para tratamentos crônicos com a 17- α -metiltestosterona seja espécie específica e também dependente dos níveis de hormônio utilizado na dieta.

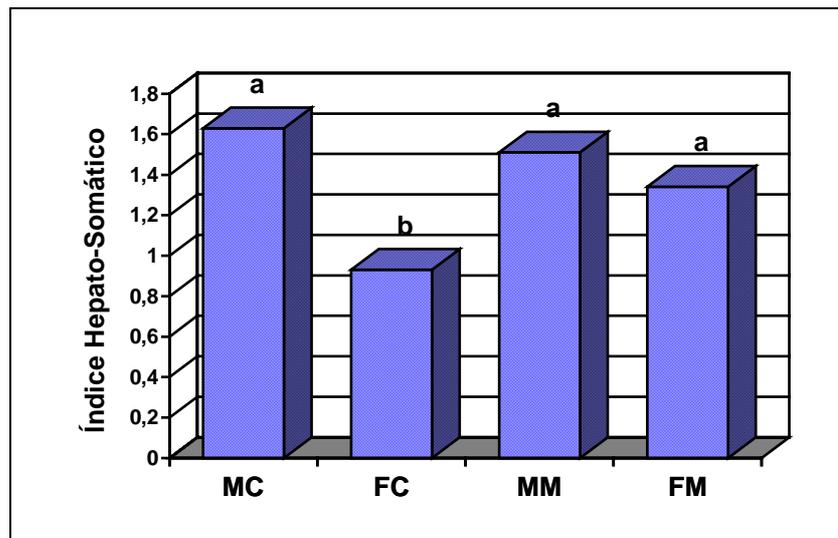


Figura 13. Índice hepato-somático (%), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K.).

O índice hipofise-somático (IHipS) do grupo FC foi superior, para $p < 0,05$, quando comparado ao dos outros grupos. Estes também diferiram entre si, sendo os valores de $MC > MM > FM$. Sendo assim, ficam evidentes diferenças nas relações entre peso da hipófise e peso corporal para os 4 grupos de peixes (Tab. 13 e Fig. 14). Estes resultados nos permitem sugerir que a intensa atividade reprodutiva dos grupos FC e MC favoreceu a um maior desenvolvimento hipofisário.

Os grupos MM e FM apresentaram IHipS de 0,53 e 0,40, respectivamente. O teste S.N.K. revelou diferença significativa ($p < 0,05$), entre estes dois grupos. Estes resultados nos permitem sugerir que o desenvolvimento da hipófise é dependente do sexo fenotípico e da carga genética dos peixes.

A análise de variância dos valores obtidos com a correlação área da PPD/ área da hipófise revelou, para $p < 0,05$, que as médias entre os grupos são diferentes. Pelo teste de S.N.K. o grupo FC apresentou valor maior para esta correlação. Estes valores foram

diferentes, para $p < 0,05$, quando comparados aos grupos MC e FM, mas similar ao grupo MM. Ficou, ainda, demonstrado que os grupos MC, MM e FM não apresentaram diferenças significativas entre si para $p < 0,05$ (Tab. 13 e Fig. 15).

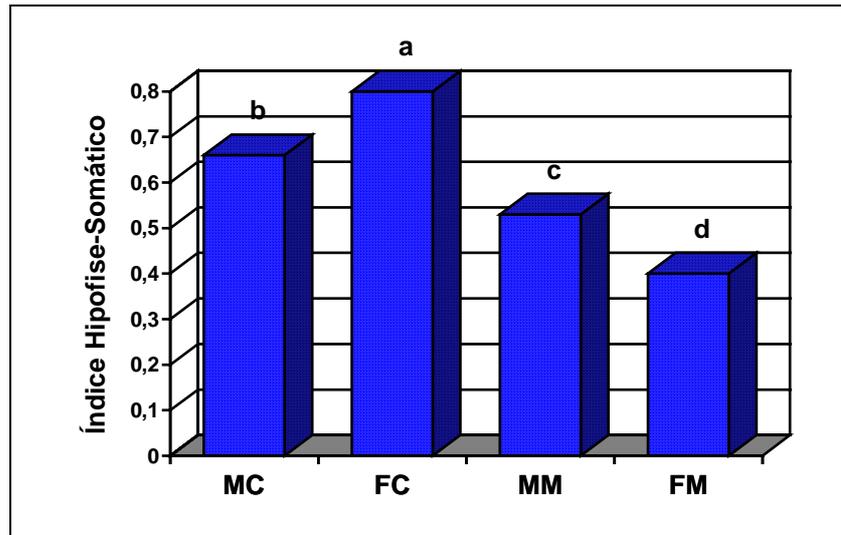


Figura 14. Índice hipofise-somático, de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

O grupo FC apresentou valor de 0,126 para a correlação área da PPD/ área da hipófise e os grupos MC, MM e FM valores de 0,098; 0,108 e 0,098, respectivamente. Estes resultados sugerem que as fêmeas de tilápia do Nilo apresentam maior área de células hipofisárias gonadotróficas (Tab.13 e Fig. 15).

As gônadas de 11 tilápias machos e 9 tilápias fêmeas e 34 tilápias revertidas foram examinadas macro e microscopicamente. Ao serem massageados na região abdominal, no sentido crânio-caudal, deixavam fluir esperma ou ovócitos.

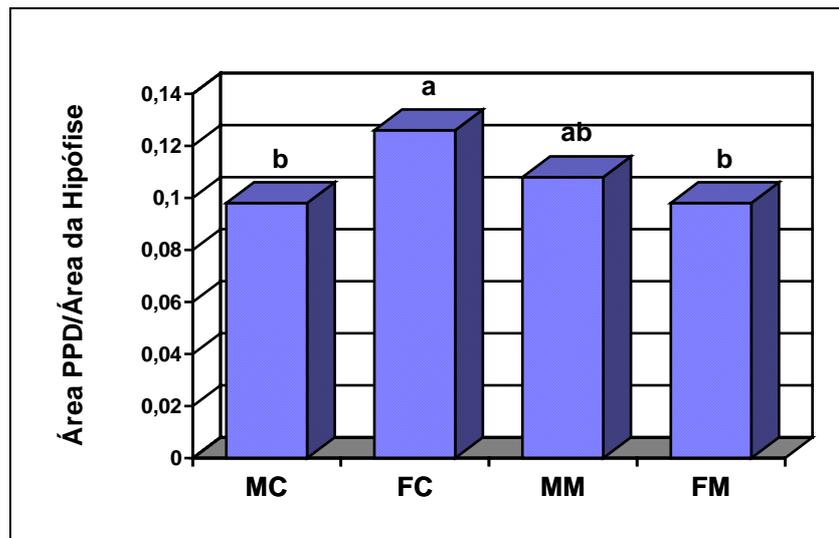


Figura 15. Correlação área da PPD/ área da hipófise, de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

Através do exame externo das diferenças da estrutura da papila urogenital e da análise macro e microscópica das gônadas, foi possível a identificação do sexo fenotípico das tilápias revertidas. Foi possível constatar que todos os peixes revertidos apresentavam poro urogenital de macho. Segundo AFONSO & LEBOUTE (1993), o método de exame da papila urogenital é efetivo na determinação do sexo fenotípico em tilápia do Nilo.

De acordo com escala de aplicação geral, descrita por VAZZOLER (1996), as características gonadais observados no presente estudo, classificam os peixes no Estágio C ou Maduro. Os ovários do grupo FC apresentavam-se ocupando quase que totalmente a cavidade celomática, túrgidos e a olho nú, observava-se ovócitos grandes, opacos e/ou translúcidos, cuja frequência variava com o progresso da maturação; os ovidutos encontravam-se ocupados por esses ovócitos.

Da mesma forma, os testículos dos peixes MC, MM e FM apresentavam-se túrgidos, esbranquiçados, ocupando grande parte da cavidade celomática. Com fraca

pressão rompia-se a membrana, fluindo esperma, menos viscoso que no estágio em maturação.

O exame histológico das gônadas dos grupos MM e FM não mostrou alterações morfológicas testiculares, como a presença de ovo-testis, aumento do tecido intersticial e do tecido fibroso do testículo ou, ainda, presença de fêmeas com ovários com alteração tecidual. Estes resultados sugerem que a taxa de reversão sexual obtida na população na segunda etapa do presente estudo foi de 100 %. A esta hipótese, pode ser somado o fato, de não ter sido encontrado na despesca total do viveiro (contendo os peixes MM e FM), alevinos ou larvas, que pudesse indicar a presença de fêmeas não revertidas e consequentemente reprodução no viveiro.

Estes resultados nos permite sugerir que em uma mesma Estação de Piscicultura, onde se pratica regularmente a reversão sexual, é possível a obtenção de diferentes taxas de tilápias do Nilo sexo revertidas, e também diferentes taxas, para alterações teciduais gonadais e/ou presença de ovo-testis. Acredita-se que cada lote de larvas em fase de reversão sexual apresente resposta diferenciada ao tratamento hormonal. POPMA & LOVSHIN (1996) e PANDIAN & SHELLA (1995) discutem os prováveis fatores capazes de interferir na eficiência da reversão sexual.

Tratamento crônico (12 semanas) com o hormônio 17- α -metiltestosterona no catfish americano, *Ictalurus punctatus*, de acordo com GANNAM & LOVELL (1991) resultou em maior desenvolvimento dos túbulos seminíferos e espermatogênese. SIMONE (1990) descreveu grande quantidade de tecido de sustentação e ausência de espermatogênese em testículos hipertrofiados de channel catfish alimentado com concentrações altas e baixas de 17- α -metiltestosterona na dieta. Em salmonídeos, McBRIDE & FAGERLUND (1976) demonstraram que o hormônio 17- α -metiltestosterona na dieta resultou em maior atividade

e desenvolvimento testicular. Em alguns casos, os testículos apresentavam massas de tecido conjuntivo edemaciadas e eram desprovidos de células germinativas discerníveis. De acordo com BILLARD & RICHARD (1982), o tratamento com 50 mg de 17- α -metiltestosterona na dieta de truta arco íris madura, resultou em severa redução da espermatogênese e vitelogênese.

Análise histológica de gônadas realizadas por NAKAMURA (1975) em *Tilápia mossambica* revelaram que altas doses (1000 $\mu\text{g/g}$) do hormônio 17- α -metiltestosterona por tempo prolongado, resultou em altas taxas de peixes intersexos. Estes peixes apresentavam gônadas contendo tecidos testiculares tubulares e tecido ovariano com a cavidade ovariana localizada atípicamente nos ductos eferentes expandidos.

A análise de variância das médias obtidas com a morfometria celular dos hepatócitos mostrou diferenças significativas, para $p < 0,05$, entre os diferentes grupos estudados (Tab. 14, Fig. 16,17).

A área e volume do citoplasma dos hepatócitos do grupo FC são significativamente menores ($p < 0,05$), quando comparadas aos grupos MC, MM e FM (Tab. 14). A área e volume do citoplasma dos hepatócitos dos grupos MC, MM e FM não diferiram entre si para $p < 0,05$. A área e o volume do núcleo do hepatócito não diferem estatisticamente para os 4 grupos ($p < 0,05$) ao teste do S.N.K.

A área e volume do citoplasma do hepatócito do grupo FC foi de $132,53 \mu\text{m}^2$ e $15,21 \mu\text{m}^3$, enquanto os grupos MC, MM e FM apresentaram respectivamente valores de $185,60$ e $20,15$; $201,71$ e $22,89$; $182,86 \mu\text{m}^2$ e $20,76 \mu\text{m}^3$. Estes resultados concordam com os resultados obtidos para o IHS, pois os menores valores de área e volume citoplasmático dos hepatócitos ocorrem no grupo de peixes FC, que apresentou menor IHS. Por outro lado,

estes resultados podem justificar o maior desgaste energético da reprodução, com uso de reservas normalmente estocadas nos hepatócitos, como glicogênio e lipídeo.

Tabela 14. Análise morfométrica do hepatócito de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM).

	MC	FC	MM	FM	F	GL	p <	C.V
Área do Citoplasma do Hepatócito (μm^2)	185,60 ^A ± 53,35	132,53 ^B ± 34,53	201,71 ^A ± 28,83	182,86 ^A ± 26,13	6,97	44	0,000	20,6
Volume do Citopl. do Hepatócito (μm^3)	20,15 ^A ± 6,07	15,21 ^B ± 3,95	22,89 ^A ± 3,71	20,76 ^A ± 3,26	5,98	44	0,002	21,7
Área do Núcleo do Hepatócito (μm^2)	12,72 ^A ± 1,28	13,98 ^A ± 2,09	14,73 ^A ± 1,43	14,61 ^A ± 2,54	2,59	44	0,066	13,5
Volume do Núcleo do Hepatócito (μm^3)	1,31 ^A ± 0,13	1,45 ^A ± 0,23	1,51 ^A ± 0,16	1,52 ^A ± 0,29	2,26	44	0,096	14,6

Médias e desvios padrões

Letras iguais: diferenças não significativas; letras diferentes: diferenças significativas (p<0,05 ao Teste de S.N.K.).

PADUA (1996) encontrou para juvenis de pacú, *Piaractus mesopotamicus*, valores de 159,96 μm^2 para a área do citoplasma do hepatócito e 16,47 μm^2 para a área do núcleo, enquanto foi de 16,90 μm^3 o volume do citoplasma do hepatócito e 1,71 μm^3 o volume do núcleo do hepatócito. Estes resultados são similares aos obtidos no presente trabalho.

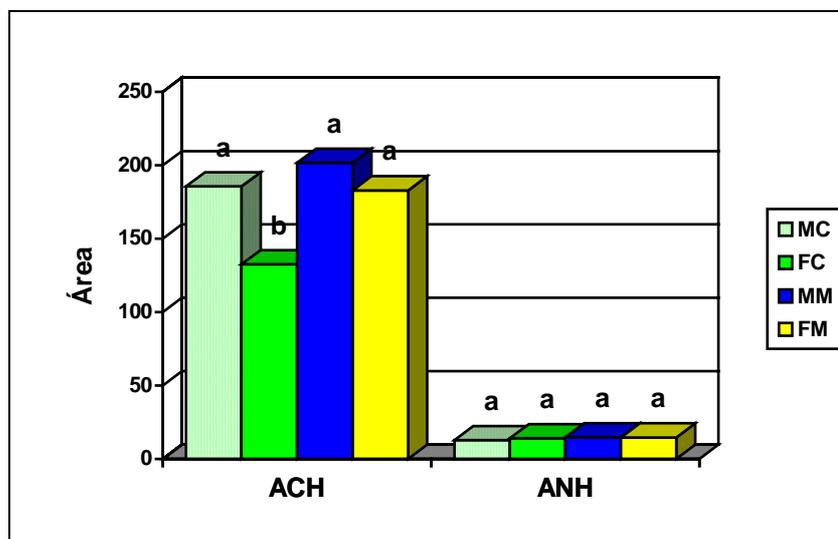


Figura 16. Área do citoplasma do hepatócito (ACH, μm^2) e área do núcleo do hepatócito (ANH, μm^2), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K.

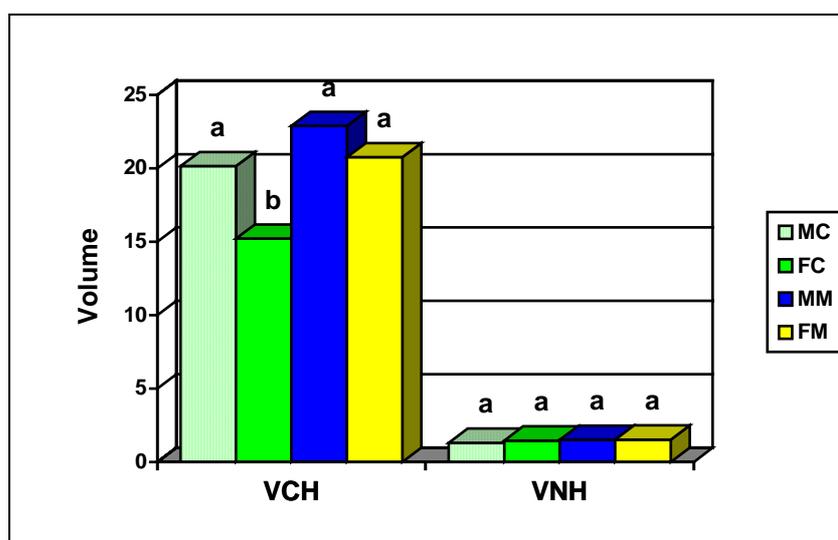


Figura 17. Volume do citoplasma do hepatócito (VCH; μm^3) e volume do núcleo do hepatócito (ANH, μm^3), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

Estudos histológicos realizados por SIMONE (1990), com fígado de channel catfish tratado crônicamente com 17- α -metiltestosterona, revelaram que este hormônio é capaz de levar a uma hiperplasia hepática. É aventado que a hiperplasia normalmente aparece devido a um rápido aumento da atividade mitótica dos hepatócitos, mas isto não foi confirmado. Sugeriu-se que este processo ocorreu logo após o início do tratamento com o hormônio e que a multiplicação das células tenha diminuído ao longo do tratamento.

4.2.3. ANÁLISE METABÓLICA

A análise de variância e o teste de S.N.K. não mostrou diferenças entre os 4 grupos de tilápias, para $p < 0,05$, quanto aos níveis de glicose e proteína plasmática (Tab. 15 e Fig. 18 e 19), embora a glicose se apresente mais baixa no FC.

No presente experimento foram encontrados valores de glicose plasmática de 51,9 a 68,6 mg/ dl, semelhante aos dados de *Sarotherodon melanotheron* (LEA MASTER *et al.*, 1990) cujas fêmeas tinham 74 mg/ dl. e machos 76 mg/ dl e inferiores aos do salmão do atlântico (KJARTANSSON *et al.*, 1988) que foram de 73,8 a 129,7 mg/dl.

Os valores de proteína plasmática encontrados no presente estudo (4,69 a 5,53 g/ dl) estão próximos aos encontrados por Kaneko (1983, In: LEA MASTER *et al.*, 1990) em *Oreochromis mossambicus* (3,18 g/dl em machos e 5,0 g/dl em fêmeas), por KJARTANSSON *et al.* (1988) no salmão do atlântico (4,25 a 6,15 g/ dl) e por LEA

MASTER *et al.* (1990) em *Sarotherodon melanotheron* (3,3 g/ dl. para os machos e 4,8 g/ dl para as fêmeas).

Tabela 15. Glicose plasmática (mg/ 100ml), proteína plasmática (mg/ ml), glicogênio hepático (g %), lipídeo total hepático (g %) de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM).

	MC	FC	MM	FM	F	GL	p <	C.V.
Glicose Plasmática	79,7 ^A ± 33,1	51,9 ^A ± 18,9	71,2 ^A ± 29,4	68,6 ^A ± 26,6	1,65	44	0,194	41,0
Proteína Plasmática	5,53 ^A ± 1,38	4,74 ^A ± 1,95	5,01 ^A ± 2,02	4,69 ^A ± 1,59	0,52	44	0,670	35,3
Glicogênio Hepático	0,060 ^B ± 0,122	0,011 ^B ± 0,012	2,201 ^A ± 1,745	1,854 ^A ± 2,016	7,26	44	0,000	139, 1
Lipídeo Hepático	10,05 ^A ± 4,29	4,87 ^B ± 0,72	9,27 ^A ± 1,95	9,29 ^A ± 2,27	5,97	43	0,002	32,3

Médias e desvios padrões

Letras iguais: diferenças não significativas; letras diferentes: diferenças significativas (p<0,05, Teste S.N.K.).

Os grupos de tilápias revertidas MM e FM apresentaram médias de glicogênio hepático superiores aos grupos controle MC e FC para p<0,05 (Tab. 15, Fig. 20). Estes resultados nos permite sugerir que a atividade reprodutiva evidenciada nos grupos MC e FC resultou em maior atividade glicogenolítica hepática. Estes dados são coerentes com os de HIROSE & HIBIYA (1968), em truta arco-íris, que demonstraram que o tratamento crônico com a 17- α -metiltestosterona resultou em hipertrofia hepática e em um aumento na deposição do glicogênio nas células do parênquima hepático. SHIAU & LIN (1993)

encontraram valores de glicogênio hepático variando de 7,4 a 9,9 g % com híbridos de tilápia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. O maior valor para o glicogênio hepático obtido no presente estudo (MM: 2,201 g %) é muitas vezes inferior aos encontrados por SHIAU & LIN (1993). Acredita-se que a dieta alimentar, condições ambientais, reprodução e metodologia possam ser os fatores responsáveis por estas diferenças.

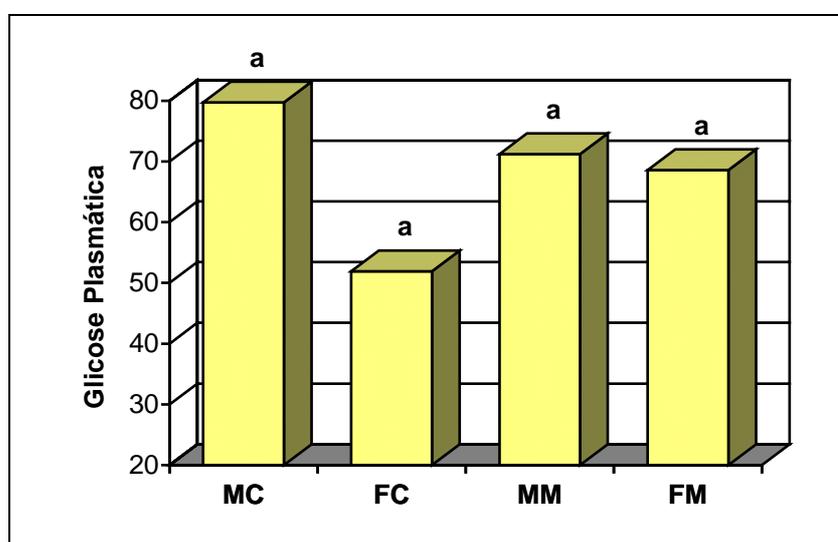


Figura 18. Glicose plasmática (mg/100ml), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

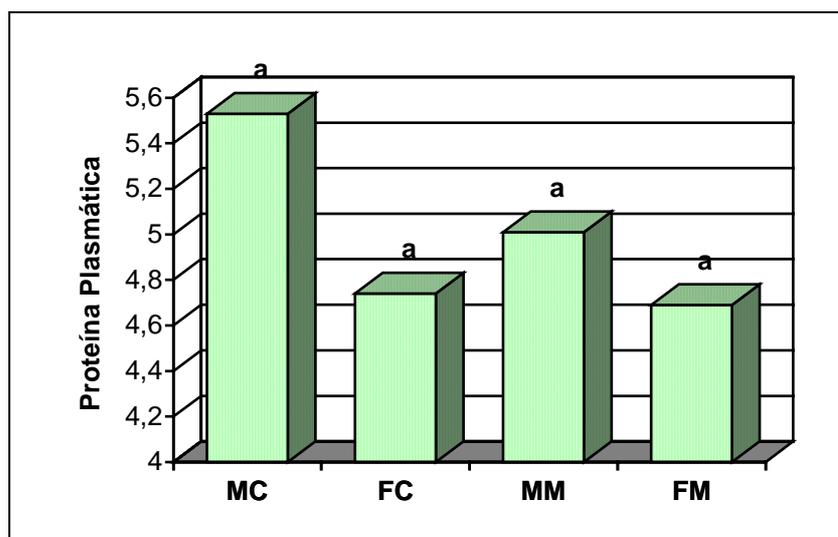


Figura 19. Proteína plasmática (g/ dl), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K.).

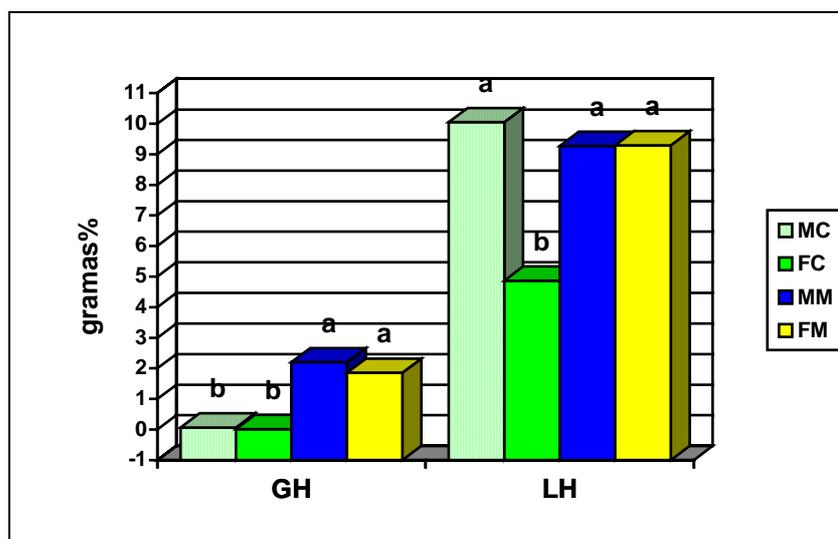


Figura 20. Glicogênio hepático (GH, g %) e do lipídeo hepático (LH, g %), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K.).

A análise de variância dos valores de lipídeos totais hepático mostrou existir diferenças, para $p < 0,05$ entre os 4 grupos (Tab. 15, Fig. 20). Ao teste de S.N.K., ficou

demonstrado que o grupo FC apresentou valor inferior aos três outros grupos, para $p < 0,05$. Da mesma forma, revelou que os grupos MC, MM e FM não apresentaram diferenças entre si. Sendo assim, o grupo FC apresentou valores de 4,87 g % e os grupos MC, MM e FM apresentaram respectivamente valores de 10,05, 9,27 e 9,29 g %.

EL-SAYED *et al.* (1984) pesquisaram o conteúdo de lipídeos totais (LT) no fígado de tilápias do Nilo machos e fêmeas nas quatro estações do ano. Os resultados obtidos por estes pesquisadores demonstraram que as fêmeas apresentaram média anual (17,49 g %) superior para $p < 0,05$ à dos machos (10,1 g %). Os machos, durante as quatro estações do ano, apresentaram valores que variaram de 4,3 a 21,68 g % e as fêmeas valores entre 12,45 e 20,20 g %. Durante as estações do inverno, primavera e outono, os peixes machos apresentaram valores inferiores às fêmeas, no entanto, no verão valores superiores às fêmeas.

Os lipídeos em peixes são de grande importância como constituinte bioquímico e os peixes normalmente os armazenam na sua estrutura corporal (EL-SAYED *et al.*, 1984). Uma parte dos lipídeos estocados no corpo dos peixes é mobilizada em casos de necessidade, como o jejum, frio intenso, exercício, reprodução, crescimento e hibernação (Ackman & Eaton, 1967; In: EL-SAYED *et al.*, 1984) e o padrão de estoque e mobilização pode refletir a história de vida do animal (SHERIDAN, 1994).

As relações entre o conteúdo de lipídeos totais (LT) entre o músculo, fígado e gônadas durante o período de reprodução em *Oreochromis niloticus*, de acordo EL-SAYED *et al.* (1984) confirmam a hipótese de mobilização lipídica por parte das gônadas durante o período de desovas. Após a fase reprodutiva, os peixes iniciaram um período de alimentação intensa, o que resultou no aumento de LT muscular e hepático e notável redução do LT gonadal.

Os resultados obtidos por EL-SAYED *et al.* (1984) apresentam semelhanças aos obtidos no presente estudo. Sendo assim, acredita-se que a tilápia do Nilo fêmea durante a fase reprodutiva mobilize reservas energéticas hepáticas para sustentar o desenvolvimento gonadal de um modo mais intenso que o macho.

4.2.4. ANÁLISE HORMONAL

A análise de variância e o teste de S.N.K. não mostraram diferenças entre os 4 grupos de tilápias, para $p < 0,05$, quanto aos níveis de testosterona, progesterona e estradiol plasmáticos (Tab. 15 e Fig. 21, 22 e 23).

Tabela 16. Testosterona plasmática (ng/ ml), progesterona plasmática (ng/ dl) e estradiol plasmático (pg/ dl) de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM).

	MC	FC	MM	FM	F	GL	p <	C.V.
Testosterona	163,17 ^A ± 210,54	743,94 ^A ± 932,36	343,78 ^A ± 469,23	448,04 ^A ± 484,89	1,91	44	0,143	130,2
Progesterona	0,66 ^A ± 0,47	0,23 ^A ± 0,17	0,58 ^A ± 0,40	0,62 ^A ± 0,39	2,53	39	0,071	74,1
Estradiol	5.473 ^A ± 1.807	3.734 ^A ± 1.513	2.715 ^A ± 2.060	2.358 ^A ± 2.282	2,02	20	0,144	55,3

Médias e desvios padrões

Letras iguais: diferenças não significativas; letras diferentes: diferenças significativas ($p < 0,05$, Teste S.N.K.).

Os maiores valores de testosterona plasmática (743,94 ng/dl) foram encontrados para o grupo de tilápias FC e os menores valores (163,17 ng/dl) para o grupo MC (Fig. 21). YARON *et al.* (1983) encontrou níveis de testosterona plasmática em machos de *Oreochromis niloticus* de 1.139 ng/dl. SILVA *et al.* (1994), relatou níveis de testosterona mais altos em fêmeas do que em machos de pacú, *Piaractus mesopotamicus*. ROTHBARD *et al.* (1983) encontraram para *Oreochromis niloticus* sexo revertidas valores de $11,1 \pm 4,3$ ng/ml e, em machos ativos sexualmente, valores de $37,8 \pm 9,1$ ng/ml. Segundo estes pesquisadores torna-se evidente que o tratamento de larvas com andrógenos não afetam os níveis circulantes de testosterona plasmática dos mesmos peixes, quando maduros sexualmente, e afirmam, que os baixos níveis de testosterona em peixes sexo revertidos pode estar relacionado com a ausência de fêmeas nos viveiros de engorda e com o comportamento sexual desta espécie.

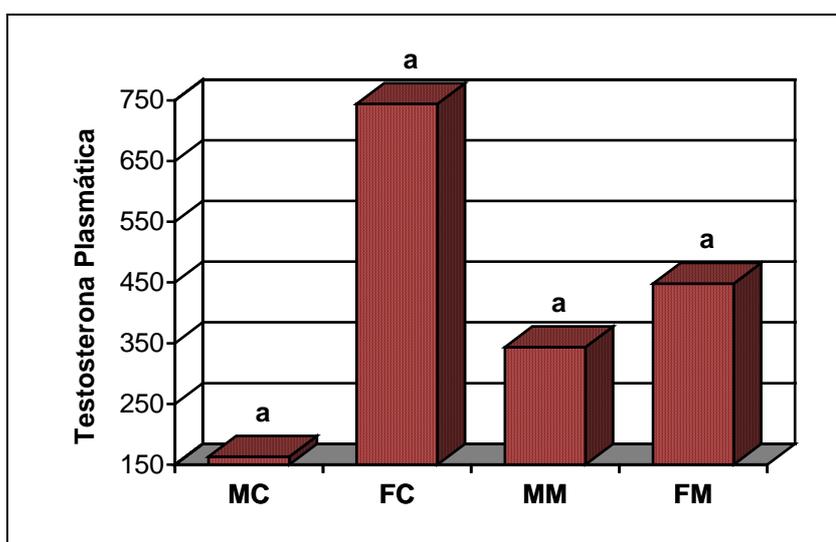


Figura 21. Testosterona plasmática (ng/dl), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

Segundo estes pesquisadores, a secreção de testosterona em tecidos testiculares de tilápia do Nilo pode ser estimulada in vitro por extratos pituitários (extrato pituitário de carpa, LH ovino, FSH ovino, GTH semi-purificado de salmão) ou pelo AMP-c.

Os menores valores de progesterona plasmática (0,23 ng/dl) foram encontrados para o grupo de tilápias FC e os maiores (0,66 ng/dl) para o grupo MC, sendo que os grupos MM e FM apresentaram respectivamente de 0,58 e 0,62 ng/ dl. Acredita-se que menores valores de progesterona plasmática para o grupo FC são compensados pelos maiores valores de testosterona. Entretanto, grandes variações individuais foram encontradas no presente estudo.

Para o estradiol plasmático foram encontrados valores de 5.473 pg/dl para o grupo de tilápias MC. Médias inferiores foram obtidas para os grupos FC, MM e FM, sendo que estes grupos apresentaram respectivamente valores de 3.734, 2.715 e 2.358 pg/dl. Muito abaixo da concentração plasmática do 17- β -estradiol em fêmeas de *Oreochromis aureus* determinada por YARON *et al.* (1983). Estes pesquisadores encontraram valores que variaram de 0,1 a 3 ng/ml para peixes com ovários quiescentes e de 10 a 40 ng/ml para peixes com ovários desenvolvidos. Segundo estes pesquisadores a secreção deste hormônio pode ser estimulada por fragmentos ovarianos in vitro pela adição de extratos pituitários de vários peixes, extratos pituitários de mamíferos, gonadotrofinas de peixes ou pelo AMP-c.

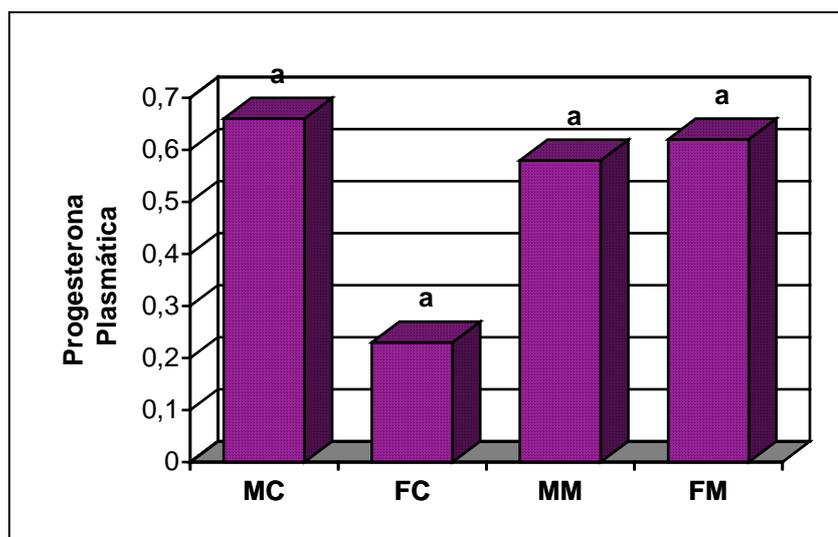


Figura 22. 17- α -hidroxiprogesterona plasmática (ng/dl), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

FAGERLUND & DYE (1979) demonstraram em salmonídeos, que 10 dias após os peixes terem sido tratados com uma dieta contendo 1mg/ kg de 17- α -metiltestosterona marcada, a concentração das substâncias radioativas foi reduzida para menos de 1 ng/g em todos os 16 tecidos pesquisados. Estes pesquisadores afirmam que este hormônio é principalmente metabolizado pelo fígado e excretado pela bile. GOUDIE *et al* (1986), pesquisando a eliminação do 17- α -metiltestosterona marcado em *Tilápia aurea*, demonstraram que 90 % do hormônio marcado foi eliminado dentro de 24 horas e que após 21 dias do término do tratamento foram encontrados menos de 1 % na carcaça e vísceras.

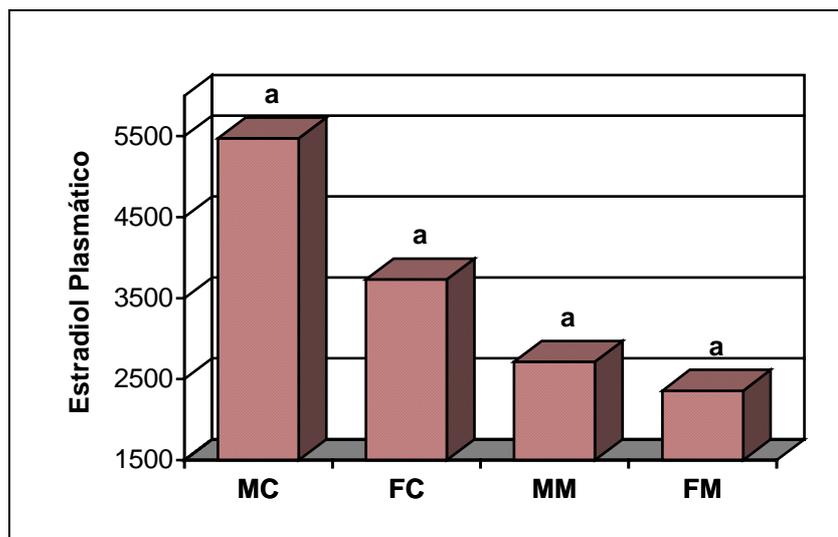


Figura 23. Estradiol plasmático (pg/dl), de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

Segundo JOHNSTONE *et al* (1983), em torno de 99 % do hormônio administrado na dieta na reversão sexual da *Oreochromis mossambicus*, é liberado na água, pelos peixes, em menos de 24 horas. CURTIS *et al* (1991) encontraram, para a tilápia do Nilo meia vida de 1 dia para a 17- α -metiltestosterona marcada (^3H - MT). Após 10 dias do tratamento foi encontrado somente traço do hormônio e a principal via de excreção deste hormônio é a bile. De acordo com POPMA & GREEN (1990), o fígado converte o 17- α -metiltestosterona em compostos solúveis em água, os quais são excretados na bile e urina.

Pesquisando os níveis dos esteróides androstenediona, testosterona, 11-ketotestosterona, estradiol e enzimas envolvidas na biossíntese dos esteróides, HINES & WATTS (1997) demonstraram que após duas semanas do término do tratamento hormonal com 17- α -metiltestosterona, para reversão sexual da tilápia do Nilo, foram encontrados valores de esteróides e enzimas biossintéticas similares aos dos grupos controle.

Os resultados obtidos por JOHNSTONE *et al* (1983), POPMA & GREEN (1990) e HINES & WATTS (1997) sugerem que a 17- α -metiltestosterona utilizada na reversão sexual dificilmente poderia ser detectados ao final da fase de engorda.

Segundo YAMAZAKI (1983), o sexo fisiológico pode ser manipulado através do uso de esteróides sexuais. Estes esteróides sexuais induzem a várias alterações reprodutivas tais como diferenciação das gônadas, gametogênese, ovulação, espermição, desova ou comportamento de corte. Para este pesquisador, a técnica de controle artificial do sexo fisiológico e genético poderá ser utilizada em pesquisas básicas para elucidar os diversos mecanismos de diferenciação sexual em peixes. Afirmam também que o resultado adequado da técnica de controle de sexo em peixes será obtido através da combinação de manipulação cromossômica e tratamento com esteróides.

O efeito do uso de esteróides exógenos, como a 17- α -metiltestosterona, no processo da indução da reversão de sexo em ciclídeos tem sido muito estudado, possibilitando assim, a compreensão de que quando estes hormônios são administrados em doses e tempos corretos, variáveis para cada espécie, eles induzem a diferenciação gonadal para machos, aceleram o processo de maturação dos espermatozoides e o crescimento dos indivíduos. Quando administrados em doses e tempos inadequados, causam alterações morfológicas e fisiológicas. Essas alterações, possivelmente, são provocadas pelo desequilíbrio no processo de regulação e balanço hormonal (CARVALHO, 1985).

A consolidação dos resultados para os níveis de testosterona, progesterona e estradiol encontrados no presente estudo estão na dependência do controle da variabilidade individual e de análise estatística diferente da utilizada no atual trabalho.

4.2.5. ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CORPORAL

A análise de variância mostra diferenças significativas para a matéria seca, proteína, extrato etéreo e cinzas na análise de composição corporal entre os quatro grupos pesquisados (Tab. 17). O teste de S.N.K. demonstrou, para a matéria seca, que o grupo de tilápias MC apresentou média superior ao grupo FC, e este por sua vez, superior aos MM e FM, que não diferiram entre si (Tab. 17, Fig. 24).

As médias de proteína bruta demonstraram, pelo teste S.N.K. ($p < 0,05$) que os grupos de tilápias MC e FC apresentavam valores superiores aos de MM e FM. Além disso, ficou demonstrado que os grupos de tilápias controle, assim como os grupos de tilápias revertidas não diferiram entre si (Tab. 17, Fig. 24).

De acordo com GANNAM & LOVELL (1991), tratamento crônico (12 semanas) com 17- α -metiltestosterona no catfish americano, *Ictalurus punctatus* resultou em perda de peso e redução do percentual de proteína e gordura corporal, enquanto em salmonídeos o tratamento com o mesmo hormônio resultou em ganho de peso e redução da gordura corporal (FAGERLUND *et al.*, 1979).

Os resultados obtidos para extrato etéreo revelaram que o grupo FC apresentou média inferior aos três outros grupos para $p < 0,05$ (S.N.K.). O grupo MC apresentou valores intermediários, e os grupos MM e FM valores máximos e similares entre si para $p < 0,05$ (Tab. 17, Fig. 25).

Os dados da análise de cinzas (C) revelaram que o grupo MC é similar ao FC, e que ambos são superiores aos MM e FM ($p < 0,05$). Observou-se também que os lotes controle e revertidos não diferiram entre si para $p < 0,05$ (Tab. 17, Fig. 25).

Tabela 17. Análise de composição corporal, expresso sobre a porcentagem da matéria seca de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM).

	MC	FC	MM	FM	F	GL	p <	C.V
Matéria Seca (%)	25,20 ^A ± 2,48	22,96 ^B ± 2,91	15,80 ^C ± 2,20	16,37 ^C ± 1,64	48,86	44	0,000	11,4
Umidade (%)	74,80 ^C ± 2,48	77,04 ^B ± 2,91	84,20 ^A ± 2,20	83,63 ^A ± 1,64	48,86	44	0,000	2,9
Proteína (%)	58,81 ^A ± 5,31	60,92 ^A ± 3,20	45,67 ^B ± 7,19	45,95 ^B ± 5,10	23,57	44	0,000	10,6
Extrato Etéreo (%)	32,83 ^B ± 9,64	24,79 ^C ± 6,17	46,27 ^A ± 7,72	46,32 ^A ± 6,27	20,75	44	0,000	20,3
Cinzas (%)	9,09 ^A ± 1,96	8,93 ^A ± 1,50	5,26 ^B ± 1,45	5,47 ^B ± 1,33	20,61	44	0,000	21,8

Médias e desvios padrões

Letras iguais: diferenças não significativas; letras diferentes: diferenças significativas (p<0,05 ao Teste de S.N.K.).

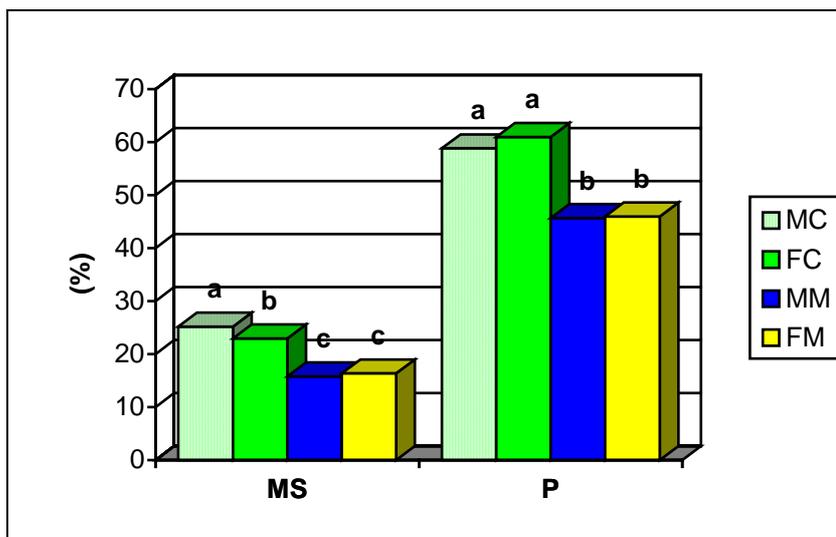


Figura 24. Matéria seca (MS, %) e proteína na carcaça (P, %) expressa sobre a porcentagem da matéria seca, de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

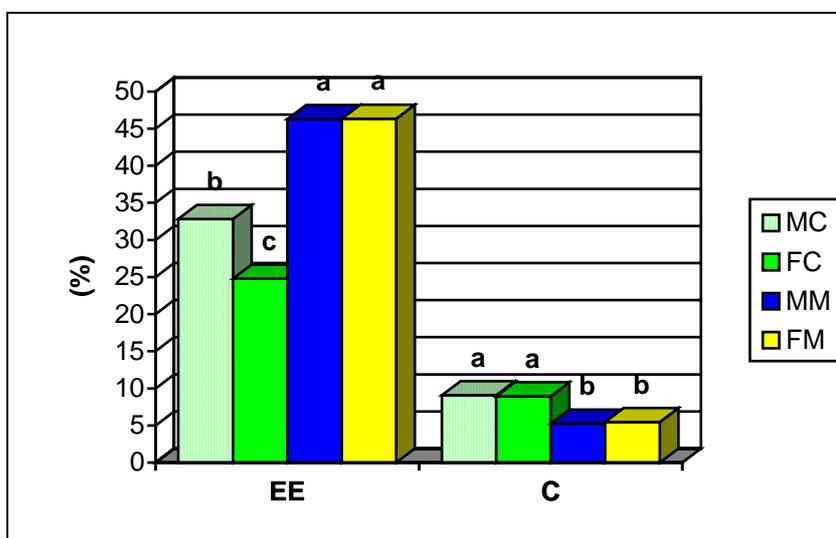


Figura 25. Extrato etéreo (EE, %) e de cinzas na carcaça (C, %), expresso sobre a porcentagem da matéria seca, de machos controle (MC), fêmeas controle (FC), machos que se mantêm macho (MM) e fêmeas revertidas para machos (FM), ($p < 0,05$ ao S.N.K).

EL-DAHLAR (1997) estudando a composição de carcaça da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, de 250 g encontrou níveis de proteína bruta (PB) de 18,5 %, extrato etéreo (EE) de 2,7 % e o teor em água (U) de 71,3 %, enquanto SHIAU & LIN (1993) encontraram valores de U variando de 73,4 a 76,7 %, PB de 14,5 a 14,7 %, EE de 3,9 a 8,1 % e C com 4,4 % com *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. FAGBENRO *et al.* (1994) encontraram para juvenis de tilápia do Nilo teor em água de 76,8 %, PB de 14,19 %, EE de 5,21 % e C de 3,56 %. Os resultados obtidos por estes pesquisadores descrevem valores expressos em porcentagem de matéria úmida. Devido a grandes diferenças no teor em água entre os peixes machos e fêmeas e os peixes revertidos sexualmente optou-se, no presente estudo, pelo cálculo de PB, EE e Cinzas expresso sobre a porcentagem na matéria seca.

Juvenis de tilápias vermelhas híbridas (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*), pesando em torno de 20 gramas e alimentadas com diferentes níveis de proteína e lipídeos, apresentaram, de acordo com SILVA *et al.* (1991), valores de U que variaram de 72,74 a 80,50 %, PB de 44,83 a 68,40 %, EE de 30,4 a 53, 82 % e Cinzas de 8,96 a 12,02 %. Os resultados obtidos por estes pesquisadores estão muito próximos dos obtidos no presente estudo.

Os resultados obtidos demonstraram que os peixes revertidos apresentaram maior teor de água e gordura e proporcionalmente menores teores de proteína bruta e cinzas. Em função destas diferenças, acredita-se que a carne dos peixes revertidos apresente qualidade e características organolépticas diferenciadas dos peixes machos e fêmeas.

É também possível sugerir que o sexo fenotípico de machos, evidenciado nos grupos MC, MM e FM não foi determinante para as diferenças encontradas na composição

corporal. Provavelmente a atividade reprodutiva do grupo FC seja um fator responsável pela redução do teor em água e gordura.

5. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais em que foi realizado o presente trabalho, os resultados obtidos na primeira etapa permitem concluir que:

1. O método utilizado de reversão sexual em águas verdes e em tanques rede é eficiente, haja visto as baixas taxas de mortalidade e os bons índices de reversão sexual (93,3 %).
2. A presença do hormônio na dieta das larvas durante a fase de reversão sexual resultou proporcionalmente em maior incremento de peso do que de comprimento.
3. A reversão sexual não interferiu nas constantes b durante a fases de alevinagem, cultivo de juvenis e engorda.
4. Ocorre maior incremento de comprimento do que de peso com o avançar da idade da tilápia do Nilo, considerando o aumento dos valores de b da fase de alevinagem até a fase de engorda,.
5. O estado fisiológico foi similar para as populações controle e sexo revertida, em função dos valores do fator de condição alométrico encontrados.

Para as condições experimentais em que foi realizada a segunda etapa do presente estudo, podemos concluir que:

1. A análise de metáfases mitóticas é um método capaz de diferenciar o sexo genotípico de tilápias sexo revertidas.
2. Ocorre mobilização intensa de reservas energéticas em função do desenvolvimento gonadal, considerando que no grupo FC, valores de índice hepato-somático (IHS), área e volume do citoplasma do hepatócito, lipídeo hepático e extrato etéreo na carcaça foram inferiores aos três outros grupos e superiores para índice gonado-somático (IGS), índice hipófise-somático (IHipS) e correlação área PPD/ área da hipófise.
3. Houve desenvolvimento hipofisário diferenciado para os grupos MM e FM provavelmente dependente do sexo genotípico, já que o grupo MM apresentou IHipS estatisticamente superior ao grupo FM.
4. Houve comportamento metabólico e endócrino semelhante para os grupos MM e FM, considerando que encontrou-se resultados similares de IGS, IHS, área PPD/ área da hipófise, morfometria celular hepática, glicose e proteína plasmática, glicogênio e lipídeo hepático, testosterona, progesterona e estradiol plasmáticos, teor em água, proteína, extrato etéreo e cinzas na carcaça.
5. Ocorreu maior atividade glicogenolítica para os peixes envolvidos com a atividade reprodutiva, pois os grupos MC e FC apresentaram níveis de glicogênio hepáticos similares, mas inferiores aos obtidos para MM e FM.

Assim: a reversão sexual leva a alterações morfológicas e metabólicas que refletem positivamente sobre o crescimento da tilápia do Nilo.

6. SUMMARY

The aim of the present research was to perform citogenetical, morphological, metabolic, hormonal and body composition studies, besides to evaluate the production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* submitted to hormonal sex reversal. In a first trial it was evaluate the production performance of tilapia. Sex reverted fish were compared to male and female fish throughout the fry reversal process, fingerling and juvenile culture and growout phase. At the beginning of the reversal process, fry smaller than 11 mm, fed a diet containing 17- α -methyltestosterone at a rate of 60 mg/Kg. for 28 days. Histological analysis of gonads showed reversal rate of 93,33 % males. The androgen did not increase mortality rate which was low and varied from 2.5 to 10.2 %. The weight and lenght increase of sex reverted fish, although not significant, was higher than that of the control group in the four experimental phases. During the reversal phase the sex reversed group presented increment in weight higher than the increment in lenght (b: 2.96) when compared to control group (b: 3.69). The results of alometric factor suggest that the physiological condition of the control group was similar to the sex reverted group. In a second trial Nile tilapia male and female in reproducers period were compared to reverted tilapia in growout

phase. Through analysis of mitotic metaphases it was possible to identify the genotypic sex of sex reverted tilapia. After androgen treatment, control male groups (CM), control female group (CF), male groups which was male after treatment (MM) and female reverted to male (FM) group were identified. CF group showed liver somatic index (LSI), area and volume of hepatocyte cytoplasm, liver lipid and carcass lipid lower than those of the other groups and gonad somatic index (GSI), pituitary somatic index (PSI) and the PPD/ pituitary area rate higher than those. These data suggest an intense energy mobilization to support gonadal development. MM group presented PSI higher than FM suggesting pituitary development different between the groups and probably depend of genetic sex. Similar results of GSI, LSI, PPD/ pituitary rate, hepatocyte morphometry, plasma glucose and protein, liver glycogen and lipid, plasma testosterone, progesterone and estradiol and carcass water, protein, lipid and ash in MM and FM groups suggest similar metabolic and endocrine pattern after androgen treatment. CM and CF groups had similar liver glycogen levels but lower than those of MM and FM groups indicating energy depletion in fish which reproduced. Sex-reverted tilapia showed higher carcass water and lipid concentration. Sex reverted fish presented anatomical and metabolic changes which affect positively fish production.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALOS, T. U. The aquaculture engineering design of a freshwater recirculating system for intensive culture of tilapia *Oreochromis niloticus*. In: WORLD AQUACULTURE 97, 28, Seattle, Washington, U.S.A. 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.1.
- AFONSO, L. O. B.; LEBOUTE, E. M.; SOUZA, S. M. G. Reversão sexual da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, através de tratamentos de imersão após a eclosão utilizando $17\ \alpha$ metiltestosterona. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7, Peruíbe, SP, 1992. *Resumos...* Peruíbe, SP, 1992. p.40.
- AFONSO, L. O. B.; HERWIG, C. H.; LEBOUTE, E. M.; SOUZA, S. M. G. Reversão sexual da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, em tanque escavado usando o hormônio $17\text{-}\alpha$ -metiltestosterona incorporado à ração. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993 b. *Anais....*Porto Alegre, RS, 1993. p. 109 - 11.

- AFONSO, L. O. B.; BARCELLOS, L. J. G.; LEBOUTE, E. M.; SOUZA, S. M. G. Reversão sexual da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, em condições de laboratório, usando o hormônio 17 α metiltestosterona. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993 c. *Anais....*Porto Alegre, RS, 1993. p. 104 - 8.
- AFONSO, L. O. B.; SOUZA, S. M. G. & LEBOUTE, E. M. Comportamento e desempenho reprodutivo da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, em condições de laboratório. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993 d. *Anais....* Porto Alegre, RS, 1993. p. 83 - 8.
- AFONSO, L. O. B. & LEBOUTE, E. M. Método para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993 e. *Anais....* Porto Alegre, RS, 1993. p. 100 - 3.
- ALCAZAR, E. R. Reversion sexual de *Oreochromis niloticus* mediante el androgeno mesterolona, en pequeños estanques de concreto. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO, 6 E SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5, 1988. Florianópolis. *Anais...* Florianópolis, 1988. p. 403 - 7.
- AL - SABIT, K.; FIJAN, N. & KURELEC, B. A simple and fast technique for the chromosome preparation in the fish. *Vet. Arhiv.*, v. 53, p. 283 - 290, 1983.
- A. O. A. C. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTRY, Washington. *Official methods of analysis*. 2 ed., 1984.
- APPEL, H. B. & LEBOUTE, E. M. Masculinização de pós-larvas de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* utilizando andrógenos através de tratamento de imersão. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 6, E

- ENCONTRO SULBRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3, Ibirubá, RS, 1995.
Anais.... Porto Alegre, RS, 1995. p. 113 - 9.
- BALARIN, J. D. & HATTON, J. P. *Tilápia: A guide to their biology and culture in África*.
University of Stirling, Scotland, 1979.
- BERTOLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S. & MOREIRA FILHO, O. Citotaxonomic
considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazil. J. Genet.* v.1,
p.103 - 20, 1978.
- BILLARD, R. & RICHARD, M. Inhibition of spermatogenesis and vitellogenesis in
rainbow trout by hormonal additives in the diet. *Prog. Fish Cult.*, v. 44, p. 15 - 8,
1982.
- BLAXHAL, P. C. Lymphocyte culture for chromosome preparations. *J. Fish. Biol.*, v. 22,
p. 279 - 82, 1983.
- BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extration and purification. *Can.*
J. Biochem. Physiol., v. 37, n. 8, p. 911 - 7, 1959.
- BOLL, M. G. *Estudo bioeconômico exploratório do policultivo de peixes em Santa*
Catarina. Florianópolis, 1994. 158 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Centro
de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.
- BRAGA, F. M. S. Estudo entre fator de condição e relação peso/comprimento para alguns
peixes marinhos. *Rev. Brasil. Biol.*, v.46, p. 339-46, 1986.
- BROWN, P. B.; TWIBELL, R. G. & WEIGEL, J. Minimum dietary crude protein for
tilapia fed diets free of fish meal. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle,
Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge,
LA, U.S.A., 1997, p.57.

- BRUTON, M. N. & ALLANSON, B. R. The growth of *Tilápia mossambica* Peters (Pisces, Cichlidae) in Lake Sibaya, South Africa. *J. Fish. Biol.*, v. 6, p. 701- 15, 1974.
- CALHOUN, W. E. & SHELTON, W. L. Sex ratios of progeny from mass spawnings of sex reversed broodstock of tilapia nilotica. *Aquaculture*, v. 33, p. 365-71, 1983.
- CARROL, N. V. R., LONGLEY, W., ROE, J. N. The determination of glycogen in liver and muscle by use anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, v. 220, p. 583 - 93, 1956.
- CARVALHO, E. D.. *Indução da reversão de sexo em Oreochromis niloticus (tilápia do Nilo) com o uso do hormônio masculinizante 17 α metiltestosterona: frequência de machos e crescimento*. São Carlos, 1985. 166p. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Depto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.
- CARVALHO, E. D. Técnicas de seleção e melhoramento genético em peixes. São Carlos, Depto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, 15p. Aula de Qualificação, 1991.
- CARVALHO FILHO, J. Tilápia Especial. *Panorama da Aquicultura*. Rio de Janeiro, jan/fev, v.5, n. 27, p.8, 1995 a.
- CARVALHO FILHO, J. Tilápia já é mais consumida que a truta no mercado norte-americano. *Panorama da Aquicultura*. Rio de Janeiro, set out, v.5, n. 31, p. 18, 1995b.
- CARVALHO FILHO, J. Números mostram crescimento do consumo de tilápias e catfish nos EUA. *Panorama da Aquicultura*. Rio de Janeiro, set/out, v.6, n. 37, p.18, 1996.
- CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CASTAGNOLLI, N; LEME DOS SANTOS, H. S.; FONSECA, S.S. Reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, através do uso do hormônio undecanato de

- testosterona na ração. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7, Peruíbe, SP, 1992. *Resumos...* Peruíbe, SP, 1992. p.39.
- CLARK, F. N. Maturity of the california sardine (*Sardine caerulea*) determined by ova diameter measurements. *Fish Bull.*, n.42, p.1 -49, 1934.
- CLEMENT, S. & LOVELL, R. T. Comparison of processing yield and nutrient composition of cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, v. 119, p. 299 - 310, 1994.
- CODA, S. *Cultivo intensivo de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) revertidas sexualmente em duas densidades de estocagem*. Londrina, 1996. 67 p. Dissertação (Bacharelado em Ciências Biológicas), Depto. de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina.
- CURTIS, L. R.; DIREN, F. T.; HURLEY, M. D.; SEIM, W. K. & TUBB, R.A. Disposition and elimination of 17 α methyltestosterone in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, v. 99, p. 193 - 201, 1991.
- CYRINO, J. E. P. Regulação nutricional do crescimento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, 1, Campos do Jordão, SP, 1995. *Anais....* Campos do Jordão, SP, 1995. p.69-90.
- DONALDSON, E. M., FAGERLUND, U. H. M. , HIGGS, D. A. , BRIDE, J. R. Hormonal Enhancement of Growth. In: HOAR, W. S., RANDALL, D. J. , BRETT, J. R. *Fish Physiology: Bioenergetics and Growth*, III. New York: Academic Press, 1979.
- DÓRIA, C. R. C. & LEONHARDT, J. L. Análise do crescimento de *Cyprinus carpio* (Pisces: Cyprinidae) em sistema de policultivo semi-intensivo com arraçoamento e adubação orgânica. *Unimar*, v. 15 (supl.), p. 223-31, 1993.

- EL-DAHAR, A. Effect of fish size on growth performance, body composition and feed utilization of Nile tilapia in Egypt. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.134.
- EL-SAYED, M. M.; EZZAT, A. A.; KANDEEL, K. M. & SHABAN, F. A. Biochemical studies on the lipid content of *Tilapia nilotica* and *Sparus auratus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 79, n. 4, p. 589 - 94, 1984.
- EL-ZARKA, S.; SHAHEEN, A. H. & EL-ALEEM, A. A. Tilapia fisherie in lake Mariut, age and growth of *Tilapia nilotica* L. , in the Alke. *Bull. Inst. Ocean. Fish.* (Cairo), v. 1, p.149 - 82, 1970.
- FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. & HAYLOR, G. Nutritive value of diets containing dried lactic acid fermented fish silage and soybean meal for juvenile *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. *Aquat. Living Resour.* v. 7, p. 79 - 85, 1994.
- FAGERLUND, U. H. M. & MCBRIDE, J. R. Growth increments and some flesh and gonad characteristics of juvenile coho salmon receving diet supplement with 17 α methyltestosterone. *J. Fish Biol.*, v. 7, p. 305 - 14, 1975.
- FAGERLUND, U. H. M.; DYE, H.M. Depletion of radioactivity from yearling coho salmon ,*Oncorhynchus kisutch* after extended ingestion of anabolically effective doses of 17 α methyltestosterone 1, 2, ³H. *Aquaculture*, v.18, p. 303 - 15, 1979.
- FAGERLUND, U. H. M.; MCBRIDE, J. R & STONE, S. T. A test of 17 α methyltestosterone as a growth promoter in a coho salmon hatchery. *Trans Am. Fish. Soc.*, v. 108, p. 467 - 72, 1979.
- FENOCCHIO, A. S. & BERTOLLO, L. A. C. A simple method for fresh-water fish lymphocyte culture. *Rev. Brasil. Genet.* v. 11, n. 4, p. 847 - 52, 1988.

FENOCCHIO, A. S.; VÊRENE, P. C.; CESAR, A. C. G.; DIAS, A. L. & BERTOLLO, L.

A. C. Short term culture from solide tissues of fishes. *Caryologia*, v. 44, p. 161 - 6, 1991.

FITZPATRICK, M. S.; GALE, W. L.; CONTRERAS, W. & SCHRECK, C. B.

Masculinization of Nile tilápia, *Oreochromis niloticus* by short-term immersion in methylidihydrotestosterone. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.158.

FORESTI, F., OLIVEIRA, C., ALMEIDA-TOLEDO, L. F.. A method for chromosome preparation from large fish specimens using in vitro short term tratment with colchicine. *Experientia*, v. 49, p. 810 - 13, 1993 a.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; GALETTI, P. M. ET DE ALMEIDA-TOLEDO, L. F.. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome*, v. 36, p. 1124 - 8, 1993 b.

GALETTI JUNIOR., P. M. *Aspectos citogenéticos da Família Anostomidae (Pisces, Characidae)*. São Carlos, 1984. Tese (Doutorado em Ecologia), Depto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.

GALLI, L. F.; TORLONI, C. E. C. *Criação de Peixes*. 3 ed. São Paulo: Nobel, 1986. 118p.

GALVEZ, J. I. & MORRISON, J. R. Efficacy of trenbolone acetate in sex inversion of the blue tilapia *Oreochromis aureus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.27, p. 483 - 6, 1996.

GANNAM, A. L. & LOVELL, R. T. Effects of feeding 17 α methytestosterone, 11 ketotestosterone, 17 β estradiol, and 3,5,3 triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, v. 92, p. 377 - 88, 1991.

- GOMES, F. P. *Curso de Estatística Experimental*. 4 ed. São Paulo: Nobel, 1970. 430p.
- GORNALL, A. G., BARDAWILL, C. J., DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, v. 177, p. 751-66, 1949.
- GOUDIE, C. A., SHELTON, W. L. & PARKER, N. C. Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to sexually undifferentiated blue tilapia. *Aquaculture*, v. 58, p. 215 - 26, 1986.
- GUERRERO, R. D. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, v. 104, n. 2, p.342 - 8, 1975.
- GUILHERME, L. C. *Efeitos da mesterolona na inversão do sexo em Oreochromis niloticus* Lavras, 1990. 49 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- GUILHERME, L. C. Teste de progênie em *Oreochromis niloticus* (Trewavas, 1982) submetidos à inversão sexual. *Ciênc. e Prát.* (Lavras), v. 16, n. 2, p. 283 - 7, 1992.
- HACKMANN, E. & REINBOTH, R. Delimitation of the critical stage of hormone-influenced sex differentiation in *Hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf) (Cichlidae). *Gen. and Comp. Endocrinology*. v. 22, p. 42 - 53, 1974.
- HANLEY, F.; ALEXANDER, L.; CARBERRY, J. & ANDERSON, R. Tilapia yield improvement through increasing stocking densities with limited aeration. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.194.
- HANSON, T. R., SMITHERMAN, R. O., SHELTON, W. L. & DUNHAM, R. A. Growth comparisons of monosex tilapia produced by separation of sexes, hybridization and sex-reversal. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN

- AQUACULTURE, 1983, Nazareth, Israel. Proceedings... Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.
- HARTLEY, S. E. & HORNE, M. T. Cytogenetic techniques in fish genetics. *J. Fish. Biol.*, v.26, p. 575-582, 1985.
- HINES, G. A. & WATTS, S. A. Understanding hormonal sex reversal in tilapia. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.490.
- HIOTT, A. E. & PHELPS, R. P. Effects of initial age and size on sex reversal of *Oreochromis niloticus* fry using methyltestosterone. *Aquaculture*, v. 112, p. 301 - 8, 1993.
- HIROSE, K. & HIBIYA, T. Physiological studies on growth promoting effect of protein anabolic steroids on fish, II. Effects of 4 chlorostestosterone acetate on rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, v. 34, p. 473 - 81, 1968.
- INSTITUTO ADOLF LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz: determinações gerais*. 3ed. São Paulo, p. 16 - 76, 1985.
- JOHNSTONE, R.; MACINTOSH, D. J. & WRIGHT, R. S. Elimination of orally administered 17 α methyltestosterone by *Oreochromis mossambicus* (tilapia) and *Salmo gairdneri* (rainbow trout) juveniles. *Aquaculture*, v. 35, p.249 - 59, 1983.
- KING, E. J., GARNER, R. J. Colorimetric determination of glucose. *J. Chem. Path.*, v. 1, p. 30 - 3, 1947.
- KJARTANSSON, H. ; FIVELSTAD, S.; THOMASSEN, J. M. & SMITH, M. J. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) reared in circular tanks. *Aquaculture*, v. 73, p. 261 - 74, 1988.

- KLIGERMAN, A. D. & BLOOM, S. E. Rapid chromosome preparatios from solide tissues of fishes. *J. Fish. Res. Board. Can.* , v. 34, p. 266 - 269, 1977.
- LAURE, H. V.; PEZZATO, L. E.; CARVALHO, E.D.; BARROS, M.M.; PADOVANI, C. R. Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* revertidas sexualmente submetidas à diferentes lotações em tanques-redes. I. Desempenho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 4, Cuiabá, MS. 1986. Anais...Cuiabá, MS. 1986. p.143-7.
- LEA MASTER, B. R.; BROCK, J. A.; FUJIOKA, R. S. & NAKAMURA, R. M. Hematologic and blood chemistry values for *Sarotherodon melanotheron* and a red hybrid tilapia in freshwater and seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 97 , n. 4, p. 525 - 29, 1990.
- LEBOUTE, E.M.; SOUZA, S. M. G.; AFONSO, L. O. B.; ZIMMERMANN, S. Estudos preliminares sobre o cultivo de tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, masculinizada em tanques rede. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993. *Anais....*Porto Alegre, RS, 1993. p.151-5.
- LE CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, v.20, n. 14, p.201 - 9, 1951.
- LEITE, R. G. *Análise quantitativa do comportamento do curimatá, Prochilodus scrofa Steind., (Characiformes, Prochilodontidae) em tanques com adubação orgânica.* São Carlos, 1987. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.
- LESLIE, L. B. & SMITHERMAN, R. O. Use of warm water effluents to induce winter spawning of tilapia in a temperate climate. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM

- ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 1983. Proceedings...Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.
- LIND, O. T. *Handbook of common methods in limnology*. 2 ed. 1979
- LITTLE, D. C.; LIN, C. K. & TURNER, W. A. Commercial scale tilapia fry production in Thailand. *World Aquaculture*, v. 26, p. 21 - 4, 1995.
- LONE, K. P. & MATTY, A. J. The effect of feeding methytestosterone on the growth and body composition of common carp, *Cyprinus carpio* (L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, v. 40, p.409 - 24, 1980.
- LOVSHIN, L. L.; DA SILVA, A. B. & FERNANDES, J. A. El cultivo intensivo del híbrido macho de *Tilapia hornorum* (macho) x *Tilapia nilotica* (hembra) en el Nordeste de Brasil. *FAO Informes de Pesca*, v. 1, n. 159, p. 162 - 76, 1974.
- LOVSHIN, L. L. The use of tilapias in extensive and intensive fish culture in the Northeast of Brasil. In: SIMPOSIO DE LA ASOCIACION LATINOAMERICANA DE ACUICULTURA, 1, Maracay, Venezuela, 1977. *Anais...* Ed. Araqua, Venezuela, 1977.
- LUND, V. X. , FIGUEIRA, M. L. O. A. *Criação de tilápias*. São Paulo: Livraria Nobel, 1989. 63p.
- LUQUET, P. Tilápia, *Oreochromis spp*. In: WILSON, R. P. *Handbook of nutrient requirements of finfish*. Florida: CRC Press, 1991. p. 169-181.
- Mac GREGOR, J. S. Fecundity of the pacific sardine (*Sardinops caerulea*). *Fishery Bull*, v. 57, p. 527 - 99, 1957.
- MACHADO, J. H.; CARRATORE, C. R. D. Uso de duas fontes de hormônio masculinizantes para a reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*.

- In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9, Sete Lagoas, MG, 1996.
*Resumos....*Sete Lagoas, MG, 1996. p.68.
- MAJUMDAR, K. C. & McANDREW, B. J. Sex ratios from interspecific crosses within the tilápias. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 1983. Proceedings...Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.
- MAINARDES PINTO, C. S. R. *Estudo comparativo do crescimento em cultivos monossexo de Oreochromis (Osteichthyes, Ciclidae)*, São Paulo, 1985. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- MAINARDES PINTO, C. S. R & PAIVA, P. Aspectos do comportamento biológico de *Tilápia rendalli* (Boulenger, 1896), em tanque. *Rev. Bras. Biol.*, (Rio de Janeiro), v. 37, n. 4, p. 745 - 60, 1977.
- MAIR, C. G.; SCOTT, A. G.; PENMAN, D. J.; BEARDMORE, J. A. & SKIBINSKI, D. O. F. Sex determination in the genus *Oreochromis*. I. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *Oreochromis niloticus*. *Theor. Appl. Genet*, v. 82, p.144-152, 1991.
- MATTY, A. J., LONE, K. P. The hormonal control of metabolism and feeding. In: TYLER, P., CALOW, P. *Fish Energetics: New Perspectives*. London: Croom Helm, 1985.
- MBAHINZIREKI, G.& DABROWSKI, K. Production of male tilapia by heat-treatment of embryos and growth on different diets in recirculation systems. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.316.
- McBRIDE, J. R. & FAGERLUND, U. H. M. Sex steroids as growth promoters in the cultivation of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Proc. World Maricul. Soc.*, v. 7, p. 145 - 61, 1976.

- MELLO, J. T. C.; ALZUGUIR, F. & TOLEDO FILHO, S. A. Ensaio em piscicultura intensiva de *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1896): análise quantitativa. *Rev. Bras. Biol.*, (Rio de Janeiro), v. 39, n. 2, p.377 - 81, 1979.
- MIRES, D. Theoretical and practical aspects of the production of all male tilapia hybrids. *Bamidgeh*, v. 29, n. 3, p. 94 - 101, 1977.
- NAKAMURA, M. Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. *Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.* v. 26, p. 99 - 108, 1975.
- NIJJHAR, B., NATEG, C. K. & AMEDJO, S. D. Chromosome studies on *Sarotherodon niloticus*, *S. multifasciatus* and *Tilapia busumana*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 1983. Proceedings...Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.
- OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; RIGOLINO, M. G. , TABATA, Y. A. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes and oocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Pisces, Salmonidae): the process of autosome and sex chromosome synapsis. *Chromosome Research.*, v. 3, p. 182 - 190, 1995.
- OZOUF-COSTAZ, C., FORESTI, F. Fish cytogenetic research: advances, applications and perspectives. *Netherlands Journal of Zoology*, v. 42 ,n. 2-3, p. 277 - 90, 1992.
- PADUA, D. M. C. *Utilização da levedura alcoólica (Saccharomyces cerevisiae) como fonte protéica na alimentação de juvenis de pacu (Piaractus mesopotamicus): Aspectos metabólicos e de desempenho produtivo.* Jaboticabal, 1996. 120 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista.

- PANDIAN, T. J. & SHEELA, S. G. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, v. 138, p. 1 - 22, 1995.
- PEZZATO, L. E. *Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* submetida à reversão sexual*. São Paulo, 1984. 90 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- POPMA, T. J.; GREEN, B. W. *Sex reversal of tilapia in earthen ponds: Aquacultural Production Manual*. Auburn: Auburn University, Alabama. Research And Development. Series n 35, 1990. 15 p.
- POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. *Worldwide Prospects for Commercial Production Of Tilapia*, Internacional Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Auburn: Auburn University, Alabama. Research And Development. Series n. 41, 1996. 23 p.
- PROENÇA, C. E. M. de; BITTENCOURT, P. R. L. *Manual de Piscicultura Tropical*. Brasília: IBAMA, 1994. 196 p.
- RIBEIRO DIAS, T. C.; PEREIRA, R. V. & CASTAGNOLLI, N. Reversão sexual da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, através da administração na dieta do hormônio $17\ \alpha$ metiltestosterona. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9, Sete Lagoas, MG, 1996. *Resumos...Sete Lagoas, MG, 1996*. p.122.
- RODERICK, E. E.; MAIR, G. C.; SKIBINSKI, D. O. F. & BEARDMORE, J. A. The YY male technology for the production of monosex tilapia - a feasible alternative to sex reversal. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p.395-6.

- ROTHBARD, S.; SOLNIK, E.; SHABBATH, S.; AMADO, R. & GRABIE, I. The technology of mass production of hormonally sex inverted all male tilapias. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 1983. Proceedings...Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.
- SÁ, M. F. P. *Efeito da adubação orgânica sobre o crescimento de *Cyprinus carpio*, *Prochilodus cearensis* e *Colossoma macropomum* em experimento de policultivo.* São Carlos, 1989. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, UFSCar
- SANCHES, L. Armazenamento de pescados. In: CEREDA, M. P. & SANCHES, L. *Manual de Armazenamento e Embalagem, Produtos Agropecuários.* Piracicaba, SP.: Livroceres e Botucatu, SP, FEPAF: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1983. p. 153.
- SAN MARTIN, A.; AFONSO, L. O. B.; SOUZA, S. M. G. Estudo de filetagem e aproveitamento de seus resíduos da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7, Peruíbe, SP, 1992. *Resumos...*Peruíbe, SP, 1992. p. 119
- SANTOS, E. P. *Dinâmica de populações aplicada a pesca e piscicultura.* Hucitec, São Paulo, SP, 1978.
- SHELTON, W. L., RODRIGUES-GUERRERO, D., LOPES-MACIAS, J. Factors affecting androgen sex reversal of tilápia aurea. *Aquaculture*, v. 25, p. 59 - 65, 1981.
- SHERIDAN, M. A. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 107 , p. 495-508, 1994.

- SHIAU, S. Y. & LIN, S. F. Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, v. 110, p. 321 - 30, 1993.
- SILVA, A. L. N. & CHAMMAS, M. A. Current status of tilapia culture in Brasil. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., 1997. *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., 1997. p. 350.
- SILVA, S. S. ; GUNASEKERA, R. M. & SHIM, K. F. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia : evidence of protein sparing. *Aquaculture*, v. 95, p. 305 - 18, 1991.
- SIMONE, D. A. The effect of the synthetic steroid 17 alpha methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, v. 84, p. 81 - 93, 1990.
- SOUZA, M. L. R.; CASTAGNOLLI, N. & KRONKA, S. N. Efeito de diferentes sistemas de aeração e densidades de estocagem nas características de carcaça da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9, Sete Lagoas, MG, 1996. *Resumos....*Sete Lagoas, MG, 1996, p. 140.
- STANSBY, M. E. & OLCOTT, H. S. Composition of fish. In: *Industrial Fishery Technology*. New York: Rinhold Publishing Corporation, 1963. p.393
- STANSBY, M. E. & OLCOTT, H. S. *Tecnologia de la Industria Pesquera*. Zaragoza: Acribia, 1968. p.391 - 400.
- TAYAMEN, M. M. & SHELTON, W. L. Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture*, v. 14, p. 349 - 54, 1978.

- VARADARAY, K. & PANDIAN, T. J. Effect of solubilizing 17 α ethynyltestosterone in three different solvents on sex reversal of mozambique tilapia. *The Progressive Fish-Culturist*, v.53, p. 67 - 71, 1991.
- VAZZOLER, A. E. A. M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e pratica*. Maringá : EDUEM, 1996. 169 p.
- VERA CRUZ, E. M. & MAIR, G. C. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, v. 122, p. 237 - 248, 1994.
- VERANI, J. R. Controle populacional em cultivo intensivo consorciado entre a tilápia do Nilo, *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus, 1757) e o tucunaré comum, *Cichla ocellaris* (Shneider, 1801). São Carlos, 1980. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, UFSCar
- VINATÉIA, J. E. *Piscicultura tropical. Peces nativos y exóticos*. Lima, Perú. Oficina General de Editorial, Imprenta, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1995.
- WAISE, D. A. & NAIL, B. A technique for analysing fish meiotic chromosome with light and electron microscopes. *Copeia*, v. 2, p. 499 - 503, 1987.
- WEATHERLEY, A. H. & GILL, H. S. *The biology of fish growth*. Academic Press Inc, 1987. 443 p.
- WOOTTON, R. J. *Ecology of teleost fishes*. Chapman and Hall (London), 1990. 404 p.
- YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. *Fish Physiology*, Academic Press, New York, V. III, 1969. 485 p.
- YAMAZAKI, F. Application of hormones in fish culture. *J. Fish. Res. Board Can.* v.33, p 948 - 58, 1976.
- YAMAZAKI, F. Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture*, v. 33, p. 329 - 54, 1983.

YARON, Z.; ILAN, Z.; BOGOMOLNAYA, A.; BLAUER, Z. & VERMAAK, J. F.

Steroid hormones in two tilapia species: *Oreochromis aureus* and *Oreochromis niloticus*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 1983. *Proceedings...* Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 1983. 624 p.