

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**REVERSÃO SEXUAL DA TILÁPIA DO NILO COM DIETAS
MICROENCAPSULADAS EM “SPRAY DRYER” CONTENDO
DIFERENTES DOSES DE 17- α -METILTESTOSTERONA E
TEMPOS DE ADMINISTRAÇÃO.**

Camila Antonio

Orientador: Prof. Dr. Dalton José Carneiro

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Jaboticabal – SP – Brasil

Dezembro de 2006

Antonio, Camila
A635r Reversão sexual da tilápia do Nilo com dietas microencapsuladas em
 “spray dryer” contendo diferentes doses de 17- α -metiltestosterona e tempos
 de administração/ Camila Antonio. – Jaboticabal, 2006.
 xiii, 50 f. ; 28 cm

 Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
 Orientador: Dalton José Carneiro
 Banca examinadora: Elizabeth Romagosa, Maria Cristina Thomaz
 Bibliografia

 1. Tilápia. 2.Reversão sexual. 3.Dietas microencapsuladas. I. Título. II.
Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

 CDU 639.31

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

CAMILA ANTONIO – nascida em 30 de maio de 1979, é natural de Araras, estado de São Paulo. Em 2004 graduou-se em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Câmpus de Jaboticabal. Iniciou em agosto de 2004 o curso de Mestrado em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, na mesma instituição. Concluiu o curso de Mestrado em dezembro de 2006.

DEDICO

Aos meus pais Ademar e Rose e minha irmã Ana Carla

Por me ensinarem a encontrar prazer nas coisas simples.

*Minha eterna gratidão pelo amor, carinho, incentivo,
dedicação, amizade, confiança e pelos exemplos
de vida, simplicidade, batalhas e respeito.*

Meus tesouros, meus amores.

OFEREÇO

Ao meu Bê

*Durante 11 anos que se passaram nunca encontrei pessoa
mais paciente, companheira, dedicada, prestativa
e, da sua maneira, amorosa. Este é o Esso.*

*È meu “queri”, meu “piruli”,
“di coisa maravilha”*

Meu eterno namorado.

“Desejaria te prometer a felicidade eterna, mas porque sei que não poderia cumprir, desejo conquistar dia-a-dia ao seu lado uma felicidade possível”.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Professor Doutor Dalton José Carneiro

Por me acolher com tanto carinho, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pela orientação, apoio, ensinamentos, confiança e amizade.

À Professora Elma Neide Vasconcelos Martins Carrilho

Pela confiança e incentivo para que eu ingressasse no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Obrigada pelo “empurrãozinho” inicial! Sem a sua ajuda certamente eu não estaria concluindo esta etapa.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar forças e iluminar meus caminhos nesta jornada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal por proporcionar condições para que eu pudesse aprimorar meus conhecimentos.

Aos Professores Dr. Euclides Braga Malheiros e Dra. Maria Cristina Thomaz, membros da banca examinadora na qualificação, pelas contribuições e sugestões.

Às Professoras Dra. Maria Cristina Thomaz e Dra. Elizabeth Romagosa, membros da banca examinadora na defesa da Dissertação, pelas disposições, contribuições e enriquecimento da Dissertação.

Ao Professor Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso do Departamento de Alimentos e Nutrição da UNICAMP, pela cooperação e livre acesso ao equipamento “spray dryer” do Laboratório de Controle de Qualidade e à Isabela Dutra Alvim pela gentileza e colaboração durante o processamento da dieta.

À Profa. Dra. Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein por disponibilizar as larvas do Laboratório de Tilapicultura do CAUNESP e o hormônio para este experimento e também pelos esclarecimentos de dúvidas, pela confiança e amizade.

Ao Professor Dr. Euclides Braga Malheiros pela contribuição, paciência e prontidão nas análises estatísticas.

Aos funcionários do CAUNESP, Sr. Mauro, Dona Ana, Fátima, Mônica, Vera, Sú, Li, Júnior “Buxo”, Silvinha, Perereca, Márcio, Donizete, Valdecir, Roberto, Maurício, Ana Paula, Li, Silvar... enfim, toda a família “CAUNESPIANA” pelo bom atendimento e ajuda, pelas brincadeiras e sorrisos que sempre me alegravam e me animavam para tocar o experimento em frente.

Aos funcionários do LANA (Ana Paula e Sr. Orlando) pela ajuda e amizade.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FCAV-UNESP e do CAUNESP e aos funcionários das respectivas Bibliotecas pela disposição e atendimento.

Aos colegas de laboratório: Rodrigo, Luís Fernando, Ana Laura, Cleujosi, Cláucia, Márcia, Cris, Ana Paula, Gisele, Vurto, Luís Otávio, Júnior, Dario, Adriana, Eduardo, Marcelo, Tiago, Lauro, Inca, Tachinha, Sugavara, entre outros, estagiários e demais colegas do CAUNESP (Tocayo, Minhoca, Maloqueira, Cris, Balboa, Laurindo, Michele, Munir, Haluco, Casé, Mari, Léo, Tumor, Moeda, Tokuda, Karina, Fábio, Paraca, Baiano, Vitor...), todos, que de alguma forma contribuíram com ajuda, dicas, sugestões, conselhos, ensinamentos, incentivos e amizade que possibilitaram meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Às amigas Celú, Kenga e Minhoca que se dispuseram a me ajudar em finais de semana, durante o experimento, suportando o “calorão” daquela estufa. Aprenderam “na marra” o manejo com as larvas! Ao “Tocayo” (Camilo Prieto) que me ensinou diferenciar as gônadas dos peixes. Timba, que me deu muitas dicas para realizar e conduzir o experimento, Vurto, Dario e outros pela colaboração na condução do experimento.

À minha Segunda família “Companheiras da República Zoona” – Irmãzoonas:

Kenga, Celú, Baba, Pistolera, Pop, Crone, Sukú, Mari. Muringonas – Agradeço a Deus por ter encontrado pessoas tão maravilhosas para conviver durante todo este tempo. Vocês são muito especiais para mim! Vou sentir saudades, espero que agora nesta nova etapa da minha vida eu ainda encontre

peessoas como vocês, que são peças raras! “Aqui ói”, vou a procura da Felicidade, “aone” ela tiver eu acho! “Mai”, gostaria de dizer pra vocês que passei anos muito felizes aqui em Jabuca, com as melhores companheiras, vivi dias muitíssimo agradáveis e hoje estou vivendo “mai um”. Ó bem! como disse o filósofo, existem os amigos cometas que passam pela vida da gente muito rápido e é difícil de encontrá-los novamente mas por sorte existem os amigos estrelas, que brilham e estão presentes todos os dias nas nossas vidas. AMO VOCÊS!

Agradeço também o “pessoalzinho” ali do 3 e do 2 que são pessoas muito especiais para mim também! É como se fosse uma coisa só! Todos da mesma família..., morando no mesmo ambiente..., desfrutando das mesmas delícias..., passando pelos mesmos obstáculos e participando de muitos momentos de alegrias ou tristezas juntos. Fêrði ou Fêri, Rô ou Xú ou Tigrão, Cherre ou Cherrico “podre de rico”, Carla ou Carlão, Rê ou Rê mesmo e a caçulinha Muricy. Ainda tem muitos agregados, estagiários e ex-moradores oficiais da Zoona (Minhoca, Moeda, Marruá, Judoca, Yumi, Tocayo...) Essa turminha é uma família muito grande e que sempre tiveram as melhores intenções. Vou guardar boas recordações!

Ao coral da UNESP sobre a regência de Cristina Emboaba e aos amigos contraltos, sopranos, tenores e baixos. Obrigada por me transmitirem tranquilidade, pela diversão, descontração e pela amizade.

Ao grupo de capoeira “Guerreiro de Aruanda”, ao Prof. Coelho e aos colegas de treino, pelos momentos de descontração.

Agradeço novamente à Deus, por ter me apresentado pessoas maravilhosas.

“Pinguei na manjuba...

...mas é melhor pingar do que secar!”

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Espécie.....	3
2.2. Alimentação artificial na larvicultura	4
2.3. Dietas microencapsuladas.....	5
2.4. Reversão sexual.....	7
2.5. Hormônio.....	9
2.6. Técnicas de sexagem.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Material biológico.....	12
3.2. Condições experimentais.....	12
3.3. Tratamentos.....	13
3.4. Dietas experimentais.....	14
3.5. Alimentação das larvas.....	16
3.6. Variáveis analisadas.....	17
3.7. Constatação da reversão sexual.....	19
3.8. Delineamento experimental e análise estatística.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1. Variáveis limnológicas.....	20
4.2. Variáveis de crescimento.....	20
4.3. Sobrevivência e Reversão sexual.....	31
4.4. Classes de tamanho.....	35
5 CONCLUSÕES.....	42
6. REFERÊNCIAS.....	43

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 01. Formulação e composição das dietas microencapsuladas em “spray dryer”.....	15
TABELA 02. Composição bromatológica das dietas comerciais.....	16
TABELA 03. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias das variáveis: peso corporal (g) aos 40 dias (PC40) e aos 90 dias (PC90), taxa de crescimento específico aos 40 dias (TCE40) e aos 90 dias (TCE90), fator de condição (K) e índice gônado-somático (IGS) dos juvenis de tilápia do Nilo.....	21
TABELA 04. Médias de taxa de crescimento específico dos juvenis de tilápia aos 40 dias de experimentação no estudo da interação entre doses do hormônio masculinizante e tempos de sua administração.....	27
TABELA 05. Médias de taxa de crescimento específico dos juvenis de tilápia aos 90 dias de experimentação, no estudo das interações entre doses do hormônio masculinizante e tempos de sua administração.....	29
TABELA 06. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias da sobrevivência aos 40 dias (S40) e aos 90 dias (S90) e da taxa de reversão sexual dos juvenis de tilápia do Nilo.....	32
TABELA 07. Médias de sobrevivência aos 90 dias de experimentação (S90) no estudo das interações entre doses do hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas e os tempos de sua administração.....	33
TABELA 08. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias da porcentagem de peixes, porcentagem de machos, peso (g) e comprimento (cm) de juvenis de tilápia do Nilo por classe de tamanho.....	36
TABELA 09. Médias de porcentagem de peixes no estudo da interação entre classes de tamanho e doses de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.....	37

TABELA 10. Médias de porcentagem de peixes no estudo da interação entre classes de tamanho e tempos de administração de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.....	39
TABELA 11. Médias de porcentagem de machos no estudo da interação entre classes de tamanho e tempos de administração de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.....	40

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01. Valores médios de peso corporal (g) aos 40 e aos 90 dias de experimentação (PC40 e PC90) quanto às doses do hormônio 17- α -metiltestosterona (30,45 e 60 mg).....	22
FIGURA 02. Valores médios de peso corporal (g) aos 40 e aos 90 dias de experimentação (PC40 e PC90) quanto aos tempos de administração (20, 30 e 40 dias).....	22
FIGURA 03. Médias de Taxa de Crescimento Específico aos 40 dias de experimentação.....	28
FIGURA 04. Médias de Taxa de Crescimento Específico aos 90 dias de experimentação.....	30
FIGURA 05. Médias de número de peixes (%) por classes de tamanho.....	37
FIGURA 06. Médias de porcentagem de peixes por classes de tamanho na interação com as doses do hormônio.....	38
FIGURA 07. Médias de porcentagem de peixes por classes de tamanho na interação com tempos de administração.....	39
FIGURA 08. Médias de porcentagem de machos por classes de tamanho.....	40
FIGURA 09. Médias de porcentagem de machos por classes de tamanho na interação com tempos de administração.....	41

REVERSÃO SEXUAL DA TILÁPIA DO NILO COM DIETAS MICROENCAPSULADAS EM “SPRAY DRYER” CONTENDO DIFERENTES DOSES DE 17- α -METILTESTOSTERONA E TEMPOS DE ADMINISTRAÇÃO

RESUMO – Avaliou-se os efeitos de três doses de 17- α -metiltestosterona (30, 45 e 60 mg) em dietas microencapsuladas em “spray dryer”, de três tempos de sua administração (20, 30 e 40 dias) e da dieta testemunha (sem hormônio) administrada por 40 dias, sobre o crescimento, a sobrevivência e a reversão sexual da tilápia do Nilo. Foi utilizado o D.I.C. em esquema fatorial com testemunha (3 x 3 + 1), com três repetições. As 3.000 larvas de tilápia foram distribuídas em 30 caixas de fibrocimento e alimentadas com as dietas microencapsuladas com 37,6 % de PB e 4.480 Kcal de energia bruta kg⁻¹ da dieta. Após cada período de administração, as larvas receberam dietas comerciais sem hormônio, até o final do experimento (90 dias). O baixo crescimento na fase de reversão sexual possibilitou a disponibilidade do hormônio para agir nas gônadas e reverter o sexo dos peixes. Quanto maior foi o tempo de administração das dietas microencapsuladas menor foi o crescimento das larvas na fase de reversão. Aos 90 dias houve um incremento de peso dos peixes para todos os tratamentos. As maiores doses do hormônio e os menores tempos de administração das dietas microencapsuladas contribuíram para obter maior peso corporal dos peixes no final do experimento. A sobrevivência não foi influenciada pelos fatores e apresentou-se baixa. As taxas de reversão sexual foram altas (em torno de 95%) não havendo efeito significativo entre os tratamentos que diferiram somente da testemunha (68,21%). Sugere-se utilizar dietas microencapsuladas contendo a menor dose de hormônio (30 mg) e o menor tempo de administração (20 dias) que garantem valores satisfatórios de reversão sexual.

Palavras-Chave: dosagens, hormônio, masculinização, *Oreochromis niloticus*

SEXUAL REVERSION OF THE NILE TILAPIA WITH DIETS MICROENCAPSULATED ON “SPRAY DRYER” CONTAINING DIFFERENT 17- α -METILTUESTOSTHERONE DOSES AND ADMINISTRATION TIMES

ABSTRACT – It has been evaluated the effect of three 17- α -metilthetostherone doses (30,45 and 60) on diets microencapsulated on “spray dryer”, three administration times (20, 30 and 40 days) and a testimony diet (no hormone) administrated for 40 days, on growth, survival and sexual reversion of the Nile tilapia. It was used a CRD on a factorial scheme with testimony (3 x 3 + 1), with three replicates. The 3.000 tilapia larvae were distributed in 30 fibercement boxes and fed the microencapsulated diets with 37.6% CP and 4,480 Kcal of gross energy kg⁻¹ of the diet. After each administration time, the larvae received commercial diets with no hormone, until the end of the experiment (90 days). The low growth on the sexual reversion phase has made possible the availability of the hormone to actuate on the gonads and revert the fish sex. The longer the administration time of the microencapsulated diets, lower the larvae growth on the reversion phase. At 90 days there was increase on fish weight for all treatments. The highest doses of hormone have contributed to obtain the higher fish body weight at the end of the experiment. Survival has not been influenced by the factors and was low. The sexual reversion rates were high (around 95%) with no significant effect among the treatment, which differed only from the testimony (68.21%). It is suggested to use microencapsulated diets containing the lowest hormone dose (30 mg) and the shortest administration time (20 days) that guarantee satisfactory sexual reversion values.

Key words: dosages, hormone, masculinization, *Oreochromis niloticus*

1. INTRODUÇÃO

As pesquisas realizadas na área de aquicultura, principalmente em nutrição, sanidade, crescimento e reprodução, vêm cooperando com a expansão da piscicultura intensiva de teleósteos. Atualmente, o interesse das indústrias aquícolas em produzir espécies de alta qualidade em curto ciclo e com preço competitivo demanda pesquisas que visem principalmente na tilapicultura, a obtenção de populações monossexuais, que ofereçam melhor produção.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie que se destaca, principalmente por ter seu cultivo bastante difundido em países de clima tropical e subtropical, e vem crescendo nos últimos anos no Brasil, devido às características da espécie, como rápido crescimento, alta rusticidade, aceitação de rações balanceadas e produzem carne de excelente qualidade. Por outro lado, um dos inconvenientes da produção de tilápia é a sua alta capacidade reprodutiva e maturidade sexual precoce, o que resulta numa superpopulação heterogênea no ambiente de criação, e conseqüentemente, prejuízos para o produtor.

A reversão sexual, além de eliminar problemas relativos à reprodução, proporciona a obtenção de populações constituídas apenas por machos que, no caso da tilápia apresentam maior potencial de crescimento. As fêmeas desta espécie disponibilizam grande quantidade da sua energia para a produção de óvulos em vez de converter esta energia em carne. Além disso, após a desova incubam os ovos na boca durante no mínimo duas semanas, deixando de se alimentar. Assim, o crescimento das fêmeas torna-se desacelerado para a atividade econômica, além do macho crescer muito mais rápido que a fêmea.

Há algumas décadas têm sido estudadas técnicas de obtenção de populações monossexo masculinas e a mais empregada, por sua viabilidade e praticidade, é a reversão sexual através da incorporação de hormônios masculinizantes em dietas para larvas, antes de ocorrer a diferenciação sexual em espécies gonocoristas indiferenciadas. O processo é iniciado convencionalmente, quando as larvas possuem de 7 a 12 dias de vida, com 9 a 11 mm de comprimento total, utilizando-se doses do

hormônio 17- α -metiltestosterona variando de 30 a 60 mg.kg⁻¹ da ração e pelo período de 21 a 28 dias.

As dietas utilizadas neste processo que são invariavelmente fareladas, apresentam problemas como lixiviação de nutrientes e altas quantidades de hormônio na água, que levam ao decréscimo nas taxas de sobrevivência, no crescimento e na reversão sexual das larvas, além de problemas de impacto ambiental.

Desta forma, uma alternativa para tentar minimizar estes problemas é a utilização de dietas microencapsuladas para a reversão sexual. Alguns estudos sobre o uso de microdietas já foram desenvolvidos obtendo-se bons resultados para dietas microencapsuladas processadas em “spray dryer”. Este tipo de microdieta preparada com ingredientes de alta qualidade nutricional pode proporcionar atratividade e atender as exigências nutricionais das larvas, além de proporcionar elevadas taxas de reversão sexual quando adicionadas doses satisfatórias do hormônio masculinizante à microdieta e administradas por tempos adequados.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses do hormônio 17- α - metiltestosterona em dietas microencapsuladas em “spray dryer” e dos tempos de sua administração sobre o crescimento, a sobrevivência e principalmente a reversão sexual da tilápia do Nilo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Espécie*

A designação tilápia vem de um grupo de peixes que abrange cerca de 70 espécies, divididas em quatro gêneros, todos pertencentes à família Cichlidae e subfamília Tilapiinae. Sua área de distribuição natural ocorre nas bacias dos rios Nilo, Níger e Senegal, de onde foi disseminada por quase todo mundo (LEONHARDT, 1997).

A tilápia do Nilo foi introduzida no Brasil pelo estado do Ceará, por meio do D.N.O.C.S. (Departamento Nacional de Obras Contra a Seca), em Pentecoste em 1971, procedente da Costa do Marfim, África. Recebeu a denominação de tilápia do Nilo por ser oriunda da bacia deste rio africano. Esta espécie de peixe é facilmente reconhecível por apresentar listras verticais na nadadeira caudal, coloração metálica, corpo curto e alto, cabeça e cauda pequenas (GALLI & TORLONI, 1986). Adaptam-se muito bem em regiões tropicais e subtropicais onde as temperaturas da água variam entre 18 e 30°C, entretanto, são sensíveis a temperaturas abaixo de 12°C e acima de 42°C, podendo ser letais para estes peixes (LUND & FIGUEIRA, 1989).

É uma espécie muito rústica, que ganha peso rapidamente, cujo hábito alimentar é fitoplantófago, ou seja, alimenta-se de algas unicelulares, o que torna esta espécie mais adequada às pisciculturas em águas tropicais (WATANABE, 2001). Pode ser considerada também de hábito alimentar onívoro, fitoplantófago ou herbívoro, por apresentar diversos hábitos alimentares (BARD, 1980). Em condições naturais a tilápia ingere grande variedade de alimentos, incluindo plâncton, folhas verdes, organismos bênticos, pequenos invertebrados aquáticos, detritos e matéria orgânica em decomposição.

A popularidade da carne de tilápia vem aumentando entre os consumidores de países como o Brasil e Estados Unidos, principalmente em função das características como coloração, sabor e ausência de espinhos intramusculares no filé (LOVELL, 1999).

De acordo com seu comportamento reprodutivo, POPMA & LOVSHIN (1996), dividiram as tilápias em três grupos taxonômicos: *Tilápia spp.*, animais que incubam

seus ovos em substratos; *Oreochromis spp.*, grupo no qual as fêmeas incubam os ovos dentro da cavidade bucal e *Sorootherodon spp.*, grupo que machos ou ambos os sexos incubam os ovos na boca.

Esta espécie pode iniciar sua vida reprodutiva em torno de 50g, desviando os nutrientes consumidos para as atividades e processos ligados à reprodução. A desova acontece naturalmente em temperatura superior a 20°C, a cada 50 a 60 dias, podendo gerar de 100 a 500 juvenis, o que contribui para a heterogeneidade da população, sendo prejudicada, a produção final, pela competição por alimento e oxigênio.

Um dos inconvenientes na produção de tilápia, é a sua rápida proliferação que, associada à alta taxa de sobrevivência da prole, faz com que a espécie tenda a superpovoar os ambientes de criação, passando a competir com seus parentais por espaço, oxigênio e alimento, ocasionando prejuízos (POPMA & GREEN, 1990).

2.2. Alimentação artificial na larvicultura

O estágio mais crítico do ciclo de produção de qualquer espécie de peixe é a larvicultura e o primeiro problema observado nesta fase é o oferecimento do alimento.

A utilização de dietas artificiais como única fonte de alimento durante a larvicultura não tem demonstrado sucesso para a maioria das espécies, devido a imaturidade do aparelho digestório das larvas (HAYASHI et al., 1999), porém o seu consórcio com alimento vivo tem sido mais eficiente (FERMIN & RECOMENTA, 1988; QUIN et al.; 1997; DILAURO & KRISE, 1998; HAYASHI et al., 2001). Entretanto, a tilápia do Nilo não depende deste consórcio, pois aceita e desenvolve-se bem no período larval alimentando-se apenas de ração (SANTIAGO et al., 1987; MEURER et al., 2002).

No caso específico da tilápia, a forma de alimentação na fase larval é bastante importante, pois é durante este período que se faz a reversão sexual, geralmente pela adição de um hormônio masculinizante à ração, a qual é fornecida para os animais durante o primeiro mês de vida (SANTIAGO et al., 1987; PHELPS et al., 1995, CARRASCO et al., 1999; MEURER et al., 2003).

De acordo com KUBITZA (1997), a vantagem das larvas de tilápia do Nilo é que estas possuem o trato digestório completo, com capacidade de digestão enzimática, portanto com potencial para a utilização de rações artificiais.

Considerando estes aspectos, de acordo com KANAZAWA (1988), as dietas artificiais para larvas de peixes devem apresentar algumas características específicas, como tamanho de partícula adequada, estabilidade na água por um tempo relativamente longo, mínima lixiviação de nutrientes, composição nutricional exigida, densidade e flutuabilidade adequadas, além de ingredientes de alta qualidade nutricional e digestibilidade, textura apropriada e principalmente, apresentarem-se atrativas para as larvas.

Um fator bastante estudado atualmente na piscicultura é o processamento da ração, onde se tem dado bastante atenção às rações extrusadas e peletizadas que são utilizadas eficientemente, na recria e engorda de juvenis e adultos. No entanto, para larvas, há dificuldades, tendo em vista que nesta fase estes indivíduos têm o tamanho bastante reduzido, necessitando de uma ração com tamanho de partícula adequado ao da sua boca (KUBITZA, 1997).

Convencionalmente, durante a larvicultura da tilápia do Nilo, utiliza-se rações fareladas, podendo também utilizar-se rações pastosas (ENSMINGER & OLENTINE, 1980), micropeletizadas (SANTIAGO et al., 1987), e recentemente, microdietas (microparticulada, microaglutinada, spray-dried, microencapsulada), de forma que permita a utilização de ingredientes de melhor qualidade nutricional, proporcionando melhor atratividade e nutrição para as larvas (SILVA, 2004).

2.3. Dietas microencapsuladas

A microencapsulação é uma tecnologia antiga que se iniciou por volta de 1950 e os principais usos desta tecnologia estão nas áreas de medicamentos, fragrâncias, aromas alimentícios e produtos agropecuários.

Um conceito básico para o processamento de microencapsulação é quando um material ativo que se quer proteger é envolvido por uma membrana que isola os componentes do meio externo controlando a entrada e saída deste material.

De acordo com PEDROZA ISLAS (2002), a microencapsulação pode ser considerada como uma forma especial de revestimento de uma partícula para protegê-la do ambiente e de alterações deletérias. Em um sentido amplo, a microencapsulação é um meio de proteger, separar e até mesmo recobrir materiais em escalas microscópicas, para a liberação do “recheio” conforme desejado. Hoje o processo se aplica para preservar e ou proteger vários ingredientes comerciais (PSZCZOLA, 1998; BRAZEL, 1999; GIBAS *et al.*, 1999), como vitaminas, hormônios e aminoácidos (YÚFERA *et al.*, 2003).

A microencapsulação está sendo utilizada há alguns anos na elaboração de dietas para as espécies aquícolas, na busca de se obter alimentos que promovam qualidade nutritiva adequada, substituindo o alimento vivo e favorecendo o desenvolvimento das larvas (YÚFERA *et al.*, 1999; BASKERVILLE-BRIDGES & KLING, 2000; CAHU & ZAMBONINO-INFANTE, 2001; TESSER & PORTELLA, 2003).

Entre as várias técnicas de processamento existentes para a produção de dietas inertes para as larvas, a microencapsulação tem mostrado ser a de melhor eficiência para resolver os problemas relativos à rápida lixiviação de nutrientes e a degradação da partícula (YÚFERA *et al.*, 1995). O objetivo de microencapsular um alimento artificial é diminuir a possível lixiviação de nutrientes na água, vitaminas e outros compostos adicionados à dieta, como o hormônio 17- α -metiltestosterona utilizado para a reversão sexual.

As dietas microencapsuladas preparadas com ingredientes de boa qualidade nutricional possibilitam a nutrição e a administração do hormônio masculinizante de forma eficiente para as larvas de tilápia do Nilo, promovendo altas taxas de reversão sexual, além da obtenção de alevinos de maior tamanho (SILVA, 2004).

As microcápsulas podem ser produzidas por diferentes técnicas, classificadas pela natureza física (spray dryer), físico-química (coacervação, evaporação de solvente) e química (polimerização). O “spray dryer” é o método mais amplamente utilizado para

encapsular ingredientes alimentícios e dietas de larvas na aquicultura, por ser o mais econômico (AMJAD & JONES, 1992).

O “spray dryer” é um processo de encapsulação onde o líquido a ser encapsulado, no caso, a dieta é atomizado em pequenas gotas e desidratado em uma câmara de secagem por onde passa um fluxo de ar quente; os próprios constituintes da mistura líquida da ração podem produzir partículas que envolvam o material (membrana). Portanto, o processo corresponde à transformação de um fluído em material sólido atomizando-o em forma de gotas minúsculas em meio seco e quente, resultando geralmente em partículas inferiores a 500 micras.

2.4. Reversão sexual

O estudo da sexualidade em peixes é um assunto de grande importância na aquicultura, visto que, de acordo com YAMAZAKI (1983) há diferenças na taxa de crescimento, padrão comportamental, época de reprodução, coloração do corpo, forma e tamanho entre machos e fêmeas. Desta maneira, as técnicas de controle da sexualidade apresentam grande potencial para aumentar a produtividade nos cultivos, pois permitem obter os benefícios associados ao sexo que melhor apresentar as características morfológicas, fisiológicas ou comportamentais de interesse econômico.

A expressão do sexo depende de dois eventos: da determinação sexual e da diferenciação sexual. A determinação sexual é responsável pelo sexo genético (ou genotípico), enquanto que a diferenciação sexual é responsável pelo desenvolvimento das gônadas (sexo gonadal ou fenotípico). A interação desses dois eventos resulta em dois fenótipos: macho ou fêmea, seja morfológico, comportamental, ou funcional (PIFERRER, 2001).

Os peixes podem ser classificados como: gonocóricos (quando os sexos ocorrem separadamente nos indivíduos); hermafroditas (ambos os sexos estão presentes no mesmo indivíduo); e unissexuados (espécies onde ocorre apenas o sexo feminino). Os unissexuados apresentam reprodução natural por ginogênese, onde o espermatozóide

do macho de uma espécie bissexual, contribui apenas para a ativação do desenvolvimento do ovo, sem ocorrência da singamia e assim, com herança exclusivamente materna (YAMAZAKI, 1983).

As espécies cultivadas, em sua maioria são do tipo gonocóricas, que podem ser divididas em indiferenciadas e diferenciadas. Nas indiferenciadas, as gônadas desenvolvem-se primeiro em estruturas semelhantes aos ovários, e posteriormente, metade dos indivíduos desenvolvem-se em machos e a outra metade em fêmeas, enquanto nas espécies diferenciadas, as gônadas diferenciam-se diretamente em testículos ou em ovários (YAMAZAKI, 1983).

Nas criações comerciais, uma das principais vantagens obtidas pelo cultivo monossexo é quando um dos sexos apresenta em relação ao outro, uma marcada superioridade na taxa de crescimento. Assim, dependendo da espécie, as técnicas de controle do sexo podem trazer benefícios como: supressão da reprodução, contenção de gastos energéticos com a atividade reprodutiva, uniformidade de tamanho na colheita, redução dos efeitos da maturação sexual na aparência e na qualidade da carne, bem como a diminuição dos riscos de impacto ambiental decorrente do escape de peixes para os sistemas naturais (BEARDMORE et al. 2001).

O fenômeno de reversão sexual ocorre através da incorporação do hormônio masculinizante em dietas, a princípio fareladas, para larvas de tilápia antes de ocorrer a diferenciação gonadal e só é possível devido ao fato desta espécie ser gonocorista indiferenciada. Este fator possibilita a completa e funcional reversão do sexo (CARVALHO, 1985). A administração do hormônio através da alimentação deve iniciar-se antes que o tecido da gônada primitiva tenha se diferenciado em tecido ovariano (POPMA & LOVSHIN, 1996).

Segundo YAMAMOTO (1969), para se promover uma reversão do sexo de modo eficiente, a administração dos esteróides sexuais deve ser iniciada antes do aparecimento dos primeiros sinais da diferenciação e continuar até a fase em que a diferenciação tenha se estabelecido. De acordo com CARVALHO & FORESTI (1996), a sexagem é favorecida em larvas com mais de 68 dias de vida, ou seja, antes desta

idade as gônadas de tilápia do Nilo apresentavam-se em início de formação, ou seja, ainda indiferenciadas.

2.5. Hormônio

O sucesso da reversão sexual depende do tipo, da natureza e da concentração do hormônio utilizado, bem como da via de administração, da época de início, da duração e das condições do tratamento (temperatura, densidade) e ainda da espécie, da idade e do tamanho das larvas. A resposta à administração de esteróides sexuais varia muito de acordo com o estágio de desenvolvimento, portanto, o período em que o tratamento é conduzido (fase de maior sensibilidade ao esteróide exógeno), é tão importante quanto a dosagem ou a duração do tratamento (PIFERRER & DONALDSON, 1993).

Dentre as vias de administração do hormônio, as mais recomendadas são as que veiculam o hormônio por meio da ração para as larvas ou em banhos de imersão das larvas em solução hormonal ou ainda injeção de hormônios na cavidade peritoneal da fêmea. Em salmonídeos, os banhos de imersão aplicados próximos à eclosão, são eficientes para veicular os esteróides, pois, essas espécies possuem grande volume de vitelo, que serve como reservatório para o hormônio, que é absorvido durante a fase de diferenciação sexual (PIFERRER, 2001).

Entre os hormônios pesquisados, o andrógeno sintético 17- α -metiltestosterona (MT) tem sido bastante empregado no processo de reversão sexual, por apresentar também a vantagem de ser facilmente excretado logo após o período de tratamento hormonal (GUERRERO III & GUERRERO, 1997).

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), o hormônio 17- α -metiltestosterona é eliminado logo após o término do tratamento, não sendo encontrado em peixes que apresentam peso acima de um grama e desta maneira, sugerindo não haver dano ao consumidor já que o peixe é criado por muitos meses antes do abate.

Normalmente, o hormônio 17- α -metiltestosterona é incorporado à dieta, na quantidade de 30 a 60 mg.kg⁻¹ de ração farelada. O tratamento é iniciado quando as larvas possuem de 7 a 12 dias de vida, com 9-11 mm de comprimento total, e uma duração de 21 a 28 dias, resultando em população de fêmeas menor ou igual a 5% (GREEN & TEICHERT- CODDINGTON, 2000).

De acordo com DONALDSON, et al. (1979), este hormônio exerce efeitos anabólicos dose dependentes e são capazes de favorecer o ganho ou a perda em peso dos peixes. Segundo os autores, 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.

2.6. Técnicas de sexagem

Dentre as técnicas para sexagem de tilápias do Nilo, o exame macroscópico da papila urogenital, é um método possível de ser realizado, pelo fato da espécie ser sexualmente dimórfica, ou seja, machos e fêmeas possuem características sexuais secundárias, permitindo a diferenciação do sexo pela presença da papila urogenital (AFONSO & LEBOUT, 1993). Por outro lado, esta técnica não é 100% eficaz, pois exige mão de obra especializada, além de haver alta probabilidade de erro na seleção e estressar os peixes (POPMA & LOVSHIN 1996; BEARDMORE et al., 2001 e CARRILO, 2004).

O exame microscópico das gônadas pela histologia foi a técnica de sexagem mais recomendada por MAKINO (2005), que concluiu através do seu trabalho de validação dos métodos de identificação do sexo em tilápias do Nilo, que a histologia das gônadas permitiu um diagnóstico mais seguro, frente aos outros métodos. Este exame microscópico necessita de reagentes, corantes e de equipamentos específicos para a análise, o que torna difícil e onerosa a sua aplicação para o piscicultor.

WASSERMANN & AFONSO (2002) recomendaram o método do exame microscópico das gônadas pela coloração do acetato-carmim como alternativa mais

barata, visto este ser menos dispendioso e de mais simples execução que a análise das gônadas pela histologia. Vários trabalhos foram realizados utilizando-se esta metodologia. (GUERRERO & SHELTON, 1974; WASSERMAN & AFONSO, 2002; BOMBARDELLI et al., 2004; NEUMANN, 2004; TACHIBANA et al., 2004, SILVA 2004; MAKINO, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Campus de Jaboticabal, SP.

3.1. *Material biológico*

Foram utilizadas 3000 larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), obtidas no Laboratório de Tilapicultura do CAUNESP, em Jaboticabal, SP. Ao iniciar o experimento, as larvas com cinco dias de vida apresentaram médias de $8,87 \pm 0,90$ mm de comprimento total e $10,35 \pm 1,46$ mg de peso úmido.

3.2. *Condições experimentais*

As larvas foram distribuídas em 30 tanques de fibrocimento com capacidade de 100 litros de água. Os tanques foram mantidos inicialmente com o volume de 50 litros de água e com a densidade de duas larvas/litro. Após 50 dias de experimentação, o volume de água foi aumentado para 75 litros, permanecendo até o final do experimento (90 dias), com sistema de abastecimento de água contínuo e renovação de vinte vezes ao dia, sob aeração constante. A água foi proveniente de poço artesiano.

A temperatura da água foi aferida diariamente e as demais variáveis limnológicas (oxigênio dissolvido, pH e condutividade), semanalmente. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram aferidos através de Oxímetro (Yellow Spring Incorporation- YSI 55) e os valores de pH e condutividade foram avaliados através do aparelho (Yellow Spring Incorporation- YSI 63). Os tanques foram sifonados diariamente no período da tarde, para a eliminação das fezes e das sobras de rações.

3.3. Tratamentos

Os tratamentos foram constituídos em quatro dietas experimentais microencapsuladas em “spray dryer” que continham os mesmos ingredientes e a mesma composição nutricional, diferindo apenas pelas doses do hormônio 17- α -metiltestosterona (MT) (0, 30, 45 e 60 mg.kg⁻¹ da microdieta) adicionadas. A dieta microencapsulada sem a adição de hormônio (0 mg), foi considerada como a testemunha e foi administrada pelos 40 dias de experimento. As demais dietas contendo as doses diferentes de hormônio foram administradas por 20, 30 e 40 dias. Os 10 tratamentos em esquema fatorial 3 x 3 + 1, correspondendo às três doses de hormônio e aos três tempos de sua administração, com uma dieta testemunha e três repetições, estão determinados abaixo:

- T1 - T20D30** – dieta experimental com 30 mg de hormônio administrada em 20 dias.
- T2 – T20D45** – dieta experimental com 45 mg de hormônio administrada em 20 dias.
- T3 – T20D60** – dieta experimental com 60 mg de hormônio administrada em 20 dias.
- T4 – T30D30** – dieta experimental com 30 mg de hormônio administrada em 30 dias.
- T5 – T30D45** – dieta experimental com 45 mg de hormônio administrada em 30 dias.
- T6 – T30D60** – dieta experimental com 60 mg de hormônio administrada em 30 dias.
- T7 – T40D30** – dieta experimental com 30 mg de hormônio administrada em 40 dias.
- T8 – T40D45** – dieta experimental com 45 mg de hormônio administrada em 40 dias.
- T9 – T40D60** – dieta experimental com 60 mg de hormônio administrada em 40 dias.
- T10 – T40D0** – dieta experimental com 0 mg (sem hormônio) administrada em 40 dias.

Após os períodos de tratamento experimental com as dietas microencapsuladas, foi realizada uma segunda fase, na qual os peixes foram criados até 90 dias de idade para garantir o crescimento dos animais e possibilitar a retirada de suas gônadas.

Na segunda fase, ao final de cada período de tratamento hormonal (20, 30 e 40 dias), os peixes receberam uma ração comercial farelada sem hormônio até 50 dias de experimentação. A partir deste período, os juvenis de tilápia foram mantidos nas caixas

até completarem 90 dias de experimento e foram alimentados com rações comerciais extrusadas sem hormônio.

3.4. Dietas experimentais

Foram formuladas e processadas quatro dietas microencapsuladas em “spray dryer”, elaboradas com ingredientes de alta qualidade nutricional e respeitando as particularidades do processamento. O processo de microencapsulação das dietas em “spray dryer” foi realizado no Departamento de Alimentos e Nutrição da UNICAMP, em Campinas.

Os ingredientes utilizados e as dietas foram analisados quanto aos seus teores de umidade, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e energia bruta conforme metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C., 1990). As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP, Jaboticabal (Tabela 01).

Os ingredientes “in natura” utilizados nas dietas, especialmente a silagem de peixe, foram passados em peneiras de 0,35mm para facilitar a passagem pelo “spray dryer” e foram misturados manualmente em bacia plástica grande, com auxílio de uma colher “escumadeira” para, desta forma, homogeneizar a dieta líquida. As doses do hormônio foram dissolvidas em 50 mL de álcool e homogeneizadas nas dietas que em seguida foram processadas, iniciando-se com a dieta sem hormônio seguida pela ordem crescente das doses. Após o processamento, as dietas microencapsuladas com granulometria $\leq 500\mu\text{m}$ foram armazenadas em sacos plásticos e conservadas em geladeira.

As quatro dietas microencapsuladas foram denominadas como: D0, D30, D45 e D60, de acordo com as doses de hormônio 17- α -metiltestosterona utilizadas (0, 30, 45 ou 60 mg. kg⁻¹ da microdieta).

TABELA 01. Formulação e composição das dietas microencapsuladas em “spray dryer”.

Ingredientes	%
Silagem de peixe	27,0
Hidrolisado protéico de peixe	4,0
Ovo integral	25,1
Levedura de cana-de-açúcar	20,0
Amido pré-gelatinizado modificado	18,1
Óleo de soja	3,3
Mistura mineral e vitamínica ^{1/}	2,5
Composição Analisada:	
Matéria seca (%)	87,6
Proteína Bruta (%)	37,6
Extrato etéreo (%)	14,0
Matéria mineral (%)	6,2
ENN ^{2/} (%)	29,8
Energia bruta (Kcal/Kg) ^{3/}	4480

^{1/} (ROCHE) Suplemento mineral e vitamínico, níveis de garantia por Kg do produto: Vitamina A 500.000 UI; Vitamina D₃ 200.000 UI; Vitamina E 5000 UI; Vitamina K₃ 15000 mg; Vitamina B₁ 1500 mg; Vitamina B₂ 4000 mg; Vitamina B₆ 1500 mg; Vitamina C 1500 mg; Ácido Fólico 500 mg; Ácido Pantotênico 4000 mg; Ácido Nicotínico 7000 mg; Biotina 50000 mcg; Inositol 1000 mg; Colina 40000 mg; Cobalto 10 mg; Cobre 500 mg; Ferro 5000 mg; Iodo 50 mg; Manganês 1500 mg; Selênio 10 mg; Zinco 5000 mg e Antioxidante 12500 mg.

^{2/} ENN% = MS (%) – (PB(%) + EE(%) + MM(%))

^{3/} Calculado segundo os valores: PB = 5,5 Kcal; EE = 8,5 Kcal; e ENN = 4,1 Kcal.

A composição bromatológica da ração farelada e da extrusada utilizadas na segunda fase do experimento estão apresentadas na Tabela 02.

TABELA 02. Composição bromatológica das dietas comerciais.

Itens alimentares	Dieta farelada	Dieta extrusada
Matéria seca (%)	87,0	88,0
Proteína Bruta (%)	43,0	40,0
Extrato etéreo (%)	7,7	8,0
Matéria mineral (%)	10,7	12,0
ENN ^{1/} (%)	25,6	28,0
Energia bruta (Kcal/Kg) ^{2/}	4070	4028

^{1/} ENN% = MS (%) – (PB(%) + EE(%) + MM(%))

^{2/} Calculado segundo os valores: PB = 5,5 Kcal; EE = 8,5 Kcal; e ENN = 4,1 Kcal

3.5. Alimentação das larvas

As dietas experimentais microencapsuladas foram fornecidas quatro vezes ao dia às 7:30, 11:00, 14:30 e 18:00 horas, até a aparente saciedade. A quantidade desta dieta administrada era aumentada de acordo com o crescimento das larvas e peneiradas no momento da alimentação, de forma que as partículas das dietas se espalhassem homoganeamente nas caixas. O abastecimento de água das caixas era fechado no momento da alimentação para evitar que as partículas pequenas das dietas microencapsuladas fossem perdidas pela vazão. Após a alimentação, quando fosse certificado que as larvas de todas as caixas haviam comido, o sistema de abastecimento de água das caixas era reaberto.

A ração comercial farelada sem hormônio foi oferecida três vezes ao dia às 8:00, 13:00 e 18:00 horas, até a aparente saciedade. Após os 50 dias de experimentação foi oferecida a ração extrusada sem hormônio, com granulometria maior, acompanhando o crescimento dos peixes, duas vezes ao dia, sendo a primeira alimentação oferecida às 8:00 horas e a segunda às 17:00 horas até a aparente saciedade dos peixes.

3.6. Variáveis analisadas

Antes do período experimental, foi realizada uma biometria inicial com amostragem de 100 larvas. As larvas foram medidas, obtendo-se o comprimento total com paquímetro digital Starrett ® 727-2001 e pesadas em balança analítica digital Chyo JS-110. A biometria intermediária foi realizada aos 40 dias, e foi obtido apenas o peso médio de 10 larvas de cada caixa (30 larvas/tratamento). Isto se deve ao fato de, neste momento, diminuir o estresse de manejo com as larvas pelo fato de estarem sobre tratamento anti-parasitário.

Para o controle da parasitose (monogênea) foram realizados banhos com formalina 37% (1mL de formol/50L de água) e sal (40 mg/litro); o tratamento manteve-se por sete dias com intervalos de dois dias em todas as caixas, para que este não interferisse nos resultados do tratamento experimental.

As larvas mortas foram quantificadas para o cálculo da sobrevivência aos 40 dias (S40) e ao final do experimento (S90). As taxas de sobrevivência foram determinadas em cada parcela experimental de acordo com a fórmula:

$$\text{Sobrevivência (S)} = \frac{(\text{n}^\circ \text{ final de larvas})}{(\text{n}^\circ \text{ inicial de larvas} - \text{n}^\circ \text{ de larvas amostradas})} \times 100$$

Na biometria intermediária foram obtidos os resultados de peso corporal aos 40 dias (PC40) e calculado as taxas de crescimento específico aos 40 dias (TCE40), através da fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento específico (TCE)} = \frac{(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) \times 100}{\text{tempo}}$$

Ao final do experimento (90 dias), todos os peixes foram sacrificados e fixados em formol a 10% por 72 horas e então conservados em álcool 70%. Na biometria final, foram aferidos o comprimento total e o peso de todos os indivíduos e determinados o peso corporal aos 90 dias (PC90), a taxa de crescimento específico (TCE90) e o fator de condição (K), utilizando-se da fórmula abaixo:

$$\text{Fator de condição (K)} = \frac{\text{Peso total}}{\text{Comprimento total}^b}$$

Onde: ^b foi obtido através da equação alométrica da relação peso/comprimento.

Cada indivíduo foi dissecado para a retirada das suas gônadas que foram colocadas sobre lâminas de vidro e pesadas em balança analítica digital para a determinação do índice gonado-somático (IGS):

$$\text{Índice gonado-somático (IGS)} = \frac{\text{Peso das gônadas}}{\text{Peso total}} \times 100$$

Os peixes foram agrupados em três classes de tamanho (maiores que 9 cm, entre 7 e 9 cm e menores que 7 cm), para verificar a relação entre tamanho do peixe e proporção de machos.

3.7. Constatação da reversão sexual

A proporção de sexo foi determinada com a avaliação das estruturas das gônadas, como descrito por GUERRERO & SHELTON (1974) e confirmada por WASSERMANN & AFONSO (2003), analisando todos os indivíduos de cada parcela. As gônadas dos peixes foram pesadas, coradas com acetato de carmim a 45% em uma lâmina, comprimidas levemente com lamínula ("squash"), e posteriormente examinadas em microscópio ótico. O critério utilizado para a análise das gônadas foi: macho – presença de cistos de espermatogônia/espermátides e espermátócitos; fêmeas - presença de ovócitos e intersexos – presença de espermátócitos e ovócitos.

3.8. Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado utilizando-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) constituído de 10 tratamentos em esquema fatorial com testemunha, $3 \times 3 + 1$, correspondendo a três doses do hormônio masculinizante (MT) nas dietas microencapsuladas (30, 45 e 60 mg), três tempos de administração do hormônio (20, 30 e 40 dias) e uma dieta testemunha, também microencapsulada sem hormônio administrada por 40 dias, com 3 repetições. Os resultados de sobrevivência e taxa de reversão sexual foram transformados em $\text{Arc sen } \sqrt{x/100}$. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey, utilizando-se o nível de 5 % de significância. As análises foram realizadas no programa SAS – Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, v.8).

Para o estudo dos resultados de classes de tamanho foi utilizado o delineamento em parcelas subdivididas, tendo na parcela um fatorial com testemunha $3 \times 3 + 1$ e na subparcela três classes de tamanho.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Variáveis Limnológicas

Durante o experimento, os valores médios de temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e pH da água foram de $29,5 \pm 0,55^{\circ}\text{C}$, $7,4 \pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, $190,5 \pm 1,5 \mu\text{S.cm}^{-1}$ e $7,9 \pm 0,4$, respectivamente. Os parâmetros limnológicos mantiveram-se estáveis durante todo período experimental e dentro de uma amplitude considerada ótima para a maioria das espécies tropicais de peixes, de acordo com BOYD (1990).

4.2. Variáveis de crescimento

Em um estudo sobre a influência da idade e do tamanho das larvas na reversão sexual da tilápia do Nilo, HIOTT & PHELPS (1993) observaram que o fator mais importante para a maior eficiência da reversão sexual foi o tamanho inicial das larvas e preconizou-se que o uso de larvas com médias de comprimento total inferior a 11 mm, resultou na proporção de 95,7 % de machos e o de larvas com médias de comprimento superior a 16 mm resultou na proporção de 52,6 %, utilizando-se 60 mg de hormônio. kg^{-1} da dieta por 28 dias. Desta forma, neste experimento, quando foi realizada a primeira avaliação biométrica das larvas de tilápia, verificou-se que o lote apresentou-se homogêneo, com médias de comprimento total de $8,87 \pm 0,90 \text{ mm}$ e de peso úmido $10,35 \pm 1,46 \text{ mg}$, o que vem mostrar que as larvas encontravam-se aptas a passarem pelo processo de reversão sexual.

Os resultados das análises de variância e os valores médios das variáveis de crescimento como, peso corporal aos 40 dias de experimentação (PC40) e a aos 90 dias (PC90), taxa de crescimento específico aos 40 dias (TCE40) e aos 90 dias (TCE90), fator de condição (K) e índice gônado-somático (IGS), estão apresentados na Tabela 03.

TABELA 03. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias das variáveis: peso corporal (g) aos 40 dias (PC40) e aos 90 dias (PC90), taxa de crescimento específico aos 40 dias (TCE40) e aos 90 dias (TCE90), fator de condição (K) e índice gônado-somático (IGS) dos juvenis de tilápia do Nilo.

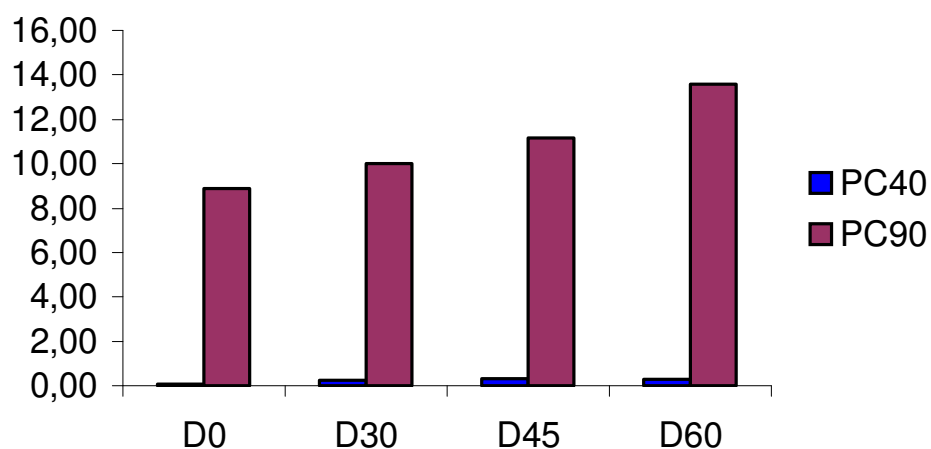
Estatística	Variáveis					
	PC40	PC90	TCE40	TCE90	K	IGS
F p/ testemunha vs fatores	40,71**	3,20 ^{NS}	118,34**	5,76*	0,32 ^{NS}	4,25 ^{NS}
Dentro do fatorial:						
F p/ doses (D)	3,22 ^{NS}	4,89*	9,76**	6,17**	0,42 ^{NS}	1,68 ^{NS}
F p/ tempos administração (T)	124,44**	3,87*	168,93**	9,41**	0,42 ^{NS}	2,66 ^{NS}
F p/ interação D x T	0,72 ^{NS}	1,48 ^{NS}	4,30*	2,42*	0,72 ^{NS}	2,38 ^{NS}
CV (%)	22,12	21,86	7,46	2,97	3,03	36,16
Médias para doses de hormônio (mg):						
D30	0,25	9,99 B	6,94	7,55	0,0165	0,0226
D45	0,32	11,15 A	8,07	7,69	0,0164	0,0268
D60	0,30	13,58 A	7,71	7,92	0,0163	0,0305
Médias para tempos de administração (dias):						
T20	0,55 A	12,44 A	9,93	7,85	0,0165	0,0293
T30	0,23 B	12,68 A	7,75	7,88	0,0163	0,0299
T40	0,09 C	9,60 B	5,04	7,44	0,0164	0,0206
Médias para testemunha: D0 T40	0,06	8,87	4,00	7,39	0,0166	0,0151

** Significativo ($P < 0,01$); * Significativo ($P < 0,05$); ^{NS} Não significativo ($P > 0,05$)

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

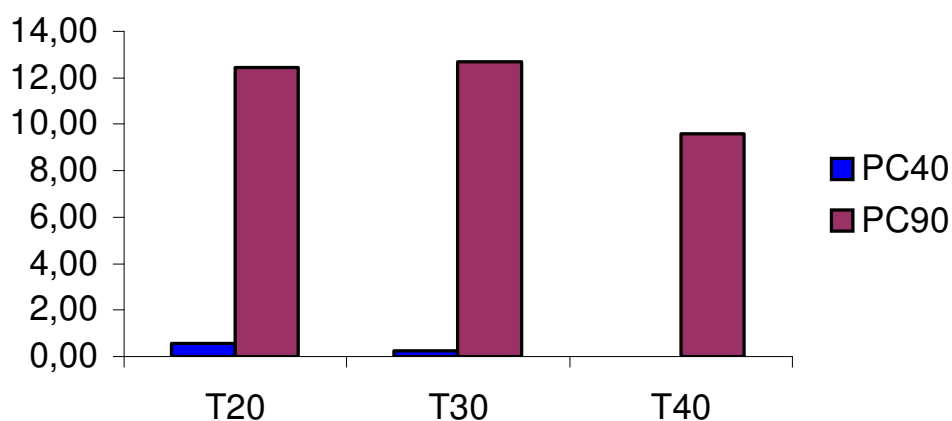
Na Tabela 03 observou-se que não houve efeito significativo ($P > 0,05$) nas interações entre doses e tempos de administração de hormônio masculinizante para os resultados de PC40, PC90, K e IGS. Desta forma, as médias obtidas para estas variáveis estão apresentadas nesta mesma Tabela para os fatores independentes (doses do hormônio masculinizante e tempos de sua administração).

Para a melhor avaliação, as Figuras 01 e 02 ilustram os resultados médios de PC40 e PC90 dos fatores doses do hormônio e tempos de administração, respectivamente.



D0 - 0 mg de MT (testemunha); **D30** - 30 mg de MT; **D45** - 45 mg de MT; **D60** - 60 mg de MT.

FIGURA 01. Valores médios de peso corporal (g) aos 40 e aos 90 dias de experimentação (PC40 e PC90) quanto às doses do hormônio 17- α -metiltestosterona (30,45 e 60 mg).



T20 - 20 dias de administração; **T30** - 30 dias de administração de; **T40** - 40 dias de administração.

FIGURA 02. Valores médios de peso corporal (g) aos 40 e aos 90 dias de experimentação (PC40 e PC90) quanto aos tempos de administração (20, 30 e 40 dias).

Na Tabela 03 observou-se que para o PC40 não houve efeito significativo ($P>0,05$) das doses e as médias neste período de 40 dias foram baixas, inferiores a um grama. No entanto, observou-se incremento em peso aos 90 dias (PC90) e também o efeito significativo ($P<0,05$) da dose do hormônio neste período, que elevou o peso corporal com os acréscimos na dose do hormônio (Figura 01).

Resultados obtidos por CARVALHO (1985) mostraram que exemplares tratados com 30mg do hormônio 17- α -metiltestosterona apresentaram melhor crescimento em comprimento e em peso, quando comparados aos resultados dos animais controle e daqueles demais tratamentos (50 e 100 mg). Entretanto, MANGWAYA (1986), SMITHERMAN & BERHREND (1988) e SIMONE (1990) verificaram que os peixes do tratamento controle (dieta sem hormônio) apresentaram crescimento e peso corporal superiores quando comparados com os dos demais tratamentos.

Na biometria intermediária deste experimento, realizada aos 40 dias, observou-se que as doses do hormônio não afetaram os resultados de peso corporal das larvas. Da mesma forma, MAINARDES-PINTO et al. (2000) também mostraram que não houve diferença no ganho de peso entre os tratamentos, concordando com os resultados obtidos por VERA CRUZ & MAIR (1994) e GUERREROIII & GUERRERO (1997); estes últimos afirmaram que o metiltestosterona tem pouco ou nenhum efeito sobre o crescimento da tilápia do Nilo durante o tratamento hormonal.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), um crescimento rápido na fase de reversão sexual, resultado de uma combinação de alta temperatura e boa qualidade da ração, pode induzir a larva a passar rapidamente pela estreita janela da susceptibilidade da reversão sexual. Neste experimento, pode-se observar que durante os tratamentos em que as larvas estavam recebendo as dietas microencapsuladas com diferentes doses do hormônio não houve desenvolvimento rápido das larvas, o que pode ter favorecido o melhor aproveitamento do hormônio para a reversão sexual. O maior desenvolvimento dos peixes ocorreu após a fase dos tratamentos experimentais, quando todas as larvas receberam a dieta comercial. Desta forma, as Figuras 01 e 02 ilustram o grande incremento do PC90 comparado ao PC40.

SILVA (2004) comparando a utilização de dietas microencapsuladas e fareladas contendo hormônio masculinizante para a reversão sexual de tilápias, mostrou que os peixes que receberam a dieta farelada com hormônio apresentaram a maior média de peso na fase de reversão sexual, e ao final, a menor taxa de reversão sexual; isto mostrou que eles cresceram muito rapidamente de forma que o hormônio não os reverteu sexualmente, pode ter havido no entanto, lixiviação parcial do hormônio.

Para os resultados de PC40 foi verificado efeito significativo ($P < 0,01$) apenas para o fator tempos de administração (Tabela 03). Com a aplicação do teste de Tukey, observou-se que o aumento no tempo de administração das dietas microencapsuladas contendo hormônio (independente da sua dose) proporcionou gradualmente menores médias de PC40. No tratamento testemunha em que as larvas receberam a dieta microencapsulada sem hormônio por 40 dias, observou-se o menor PC40 (Tabela 03). As dietas experimentais microencapsuladas tinham um tamanho de partícula pequeno, além da composição bromatológica inferior à da dieta comercial que foi oferecida logo após os períodos de administração das dietas microencapsuladas (20, 30 e 40 dias).

O teor protéico e o tamanho de partícula maior da dieta comercial podem ter beneficiado o crescimento das larvas que a receberam antes (20 e 30 dias). Então, nesta fase da reversão sexual, a dose do hormônio na dieta microencapsulada não foi um fator limitante no crescimento, mas o tempo de administração da dieta microencapsulada por um período maior limitou o crescimento das larvas. Da mesma forma, OHS et al. (1998), em estudos com dietas microencapsuladas por “spray dryer”, trabalhando com duas espécies, *Morone saxatilis* e *Macrobrachium rosenbergii*, mostraram menor crescimento quando comparados às larvas alimentadas com *Artêmia*, e certificaram que as duas espécies consumiram a dieta. Estes resultados foram reforçados por KOVALENO et al. (2002) para larvas de *Macrobrachium rosenbergii*, quando atribuíram a baixa resposta de crescimento dos animais alimentados com microdietas ao baixo nível de proteína, comparadas com a da *Artêmia*, e às características da micro-cápsula.

Utilizando várias micro-dietas para a reversão sexual de larvas de tilápia do Nilo, SILVA (2004) mostrou que as dietas microencapsuladas preparadas com ingredientes

de boa qualidade nutricional possibilitaram a nutrição e a administração do hormônio masculinizante de forma eficiente, promovendo altas taxas de reversão sexual, além da obtenção de alevinos de maior tamanho.

No futuro, o problema com o tamanho pequeno de partículas de dietas microencapsuladas poderá ser contornado com a continuidade destes estudos de processamento com gel pectina, que poderá agregar o número desejado de partículas.

Após o período de reversão sexual, quando as larvas deixaram de receber as dietas experimentais microencapsuladas com as diferentes doses do hormônio masculinizante e passaram a receber a dieta comercial até completarem 90 dias de experimentação, foram obtidos os resultados do peso corporal aos 90 dias (PC90). Observou-se na Tabela 03, que houve efeito significativo ($P < 0,05$), tanto para o fator doses do hormônio como para tempos de administração para os resultados de PC90. A comparação dos resultados de PC40 e PC90 estão melhor representados nas Figuras 01 e 02.

Na Tabela 03 notou-se que com a maior dose (D60) obteve-se a maior média de PC90 dos peixes (13,58 g), não diferindo estatisticamente da observada para os animais que receberam a dose intermediária (D45), que apresentaram média de 11,15 g, mas ambas diferiram das de menor dose (D30) que apresentaram a menor média (9,99 g). Então, para este trabalho, a sugestão de que a adição de hormônio na ração teve efeito anabolizante foi válida diante dos resultados obtidos para PC90. O efeito anabólico do hormônio 17- α -metiltestosterona já foi sugerido por vários autores, para diversas espécies de teleósteos (NAGY et al. 1981; FAGERLUND & DYE, 1979; OSTROWSKI & GARLING, 1987).

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 em peso dos peixes. Segundo HIGGS et al. (1982), vários fatores, como a temperatura, salinidade, estágio de desenvolvimento, fatores dietéticos, duração da administração e método de aplicação, são determinantes para a atuação dos esteróides no anabolismo dos peixes.

As médias de PC90 obtidas para o efeito dos tempos de administração das dietas microencapsuladas contendo hormônio (Tabela 03) comprovam o fato de que o tamanho das partículas e a composição da dieta tiveram relação com o bem estar dos peixes e, conseqüentemente, com seu desenvolvimento, desde o início do experimento. A aplicação do teste de Tukey revelou que não houve diferença estatística entre as médias de PC90 obtidas com os menores tempos de administração (T20 e T30), sendo estas as maiores médias (12,44g e 12,68g, respectivamente); a menor média ocorreu com o maior tempo de administração (T40), com média de 9,60g. Isto também ocorreu com a dieta testemunha (D0T40), onde a média do peso corporal foi baixa (8,87g) e pode ser comparada com os tratamentos realizados por 40 dias de administração, que em geral mostraram-se os menores.

Desta forma, as maiores doses do hormônio e os menores tempos de administração contribuíram para o maior peso corporal dos animais aos 90 dias de experimentação.

Os altos valores de CV encontrados para os índices de crescimento (PC40 e PC90) e para IGS (Tabela 03) mostraram que os dados apresentaram grande variabilidade. Esta heterogeneidade já era esperada pois, de acordo com VOLPATO et al. (1989) e BORGES et al. (2005), o crescimento heterogêneo entre larvas e alevinos de tilápia é uma característica muito comum, estando relacionado ao estabelecimento de hierarquias entre os peixes, onde há poucos animais grandes e muitos animais pequenos. Esta situação também foi encontrada no trabalho desenvolvido por MAKINO (2005). Os indivíduos dominantes em uma população podem consumir mais alimentos e crescerem mais rapidamente, deixando menos alimento para os outros com comportamento mais submisso, que acabam por apresentar menor crescimento, tornando-se, portanto, mais vulneráveis ao canibalismo (VERA CRUZ & MAIR, 1994 e MAINARDES-PINTO et al., 2000).

Na Tabela 03, observou-se ainda os resultados das análises de variância das TCE40 e TCE90, em que observou-se interação ($P < 0,05$) entre doses do hormônio masculinizante na dieta e os tempos de sua administração. Desta forma, estes dados

foram melhor estudados pela comparação das médias de TCE40 naTabela 04 e TCE90 naTabela 05, no estudo das interações.

TABELA 04. Médias de taxa de crescimento específico dos juvenis de tilápia aos 40 dias de experimentação no estudo da interação entre doses do hormônio masculinizante e tempos de sua administração.

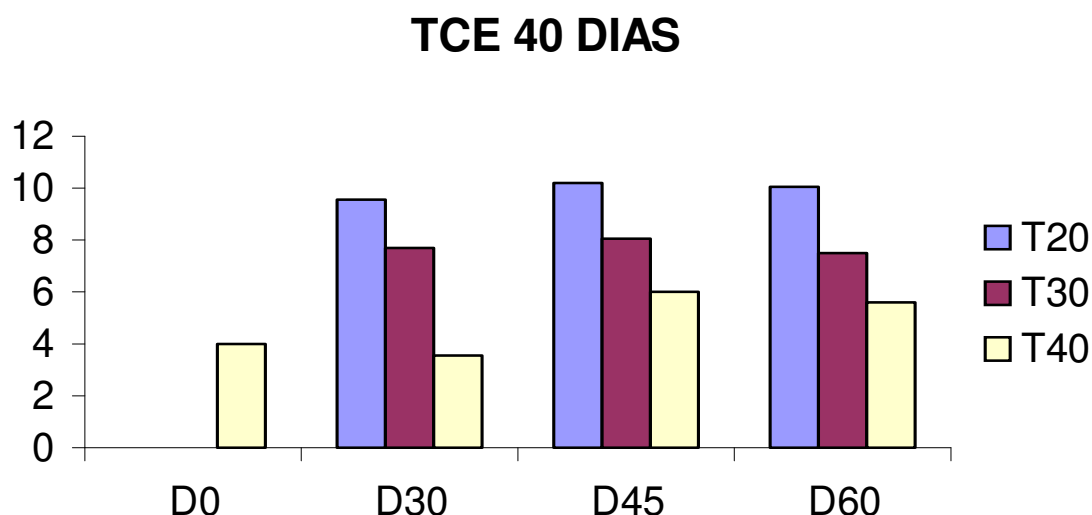
Tempos de administração (dias)	<i>Doses do hormônio na dieta (mg.kg⁻¹)</i>			
	0	30	45	60
20	-	9,57Aa ^{1/}	10,18Aa	10,03Aa
30	-	7,69Ba	8,05Ba	7,51Ba
40	3,98	3,55Cb	5,98Ca	5,60Cab

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Na Tabela 04, as médias de TCE40 confirmaram as mesmas observações obtidas para PC, ou seja, quando se elevou o tempo de administração das dietas microencapsuladas, independente da dose do hormônio, menor foi a TCE40, possivelmente devido ao tamanho e a composição desfavorável das dietas microencapsuladas fornecidas neste período. A média dos animais que receberam a dieta testemunha, sem hormônio, que foi administrada por 40 dias diferiu das demais médias e assim como nos tratamentos realizados por 40 dias apresentou média de TCE40 baixa.

A Figura 03 ilustra as médias de TCE40 no estudo da interação entre doses do hormônio e tempos de sua administração. Observou-se, no entanto, que os menores valores de TCE40 ocorreram no tempo de administração de 40 dias e dentre eles, a menor média ocorreu com a dose de 30 mg de hormônio (3,55), (Tablea 04). Com o tempo de administração de 40 dias, a maior média de TCE40 ocorreu com a dose intermediária do hormônio (45 mg). As maiores médias de TCE40 ocorreram com o menor tempo de administração (20 dias) e não houve diferença significativa entre as médias para as doses utilizadas. O crescimento do peixe pode estar relacionado

à qualidade da dieta fornecida, que precisa atender as exigências nutricionais dos peixes para que este demonstre seu potencial em crescimento.



T20 - 20 dias de administração; **T30** - 30 dias de administração de; **T40** - 40 dias de administração.

D0 - 0 mg de MT (testemunha); **D30** - 30 mg de MT; **D45** - 45 mg de MT; **D60** - 60 mg de MT.

FIGURA 03. Médias de Taxa de Crescimento Específico aos 40 dias de experimentação.

Baixas respostas das larvas ao crescimento foram observadas por YÚFERA et al. (1996) e FERNÁNDEZ-DIAZ & YÚFERA (1997) em experimentos com larvas de *Sparus aurata* e dietas microencapsuladas; estes autores atribuíram este fato à qualidade das dietas que não atenderam as exigências nutricionais das larvas, à formulação inadequada, à estrutura das partículas, e também a um problema intrínseco à capacidade digestiva destas larvas.

POPMA & GREEN (1990) mostraram que o alimento deve apresentar boa qualidade nutricional e palatabilidade, objetivando assegurar a ingestão das quantidades de hormônio, e sugeriram níveis de proteína bruta da dieta de 25 % a 45%, com pelo menos metade desta fração protéica de origem animal, e a inclusão de suplementos vitamínicos e minerais.

TABELA 05. Médias de taxa de crescimento específico dos juvenis de tilápia aos 90 dias de experimentação, no estudo das interações entre doses do hormônio masculinizante e tempos de sua administração.

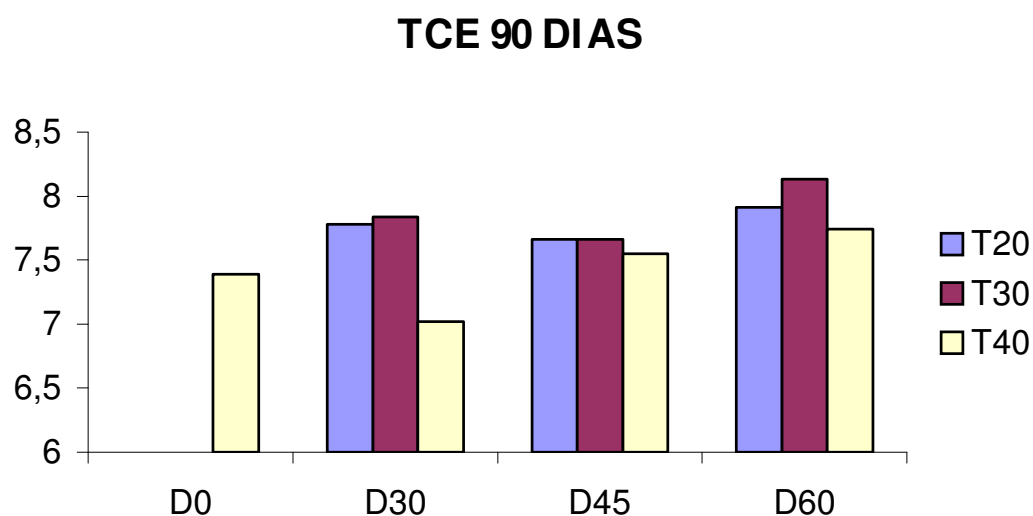
Tempos de administração (dias)	<i>Doses do hormônio na dieta (mg.kg⁻¹)</i>			
	0	30	45	60
20		7,78Aa ^{1/}	7,87Aa	7,91Aa
30		7,84Aa	7,66Aa	8,13Aa
40	7,39	7,02Bb	7,55Aa	7,74Aa

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

As médias de TCE90 (Tabela 05) mostraram-se mais homogêneas, pois desde os 50 dias até o final do experimento foi administrada uma ração comercial sem hormônio quando foi observado o incremento de peso dos peixes.

A Figura 04 ilustra as médias de TCE90 no estudo da interação entre doses de hormônio e tempos de sua administração. Observou-se que o menor valor de taxa de crescimento específico ocorreu com o tempo de administração de 40 dias quando a dose foi de 30 mg de hormônio; os demais valores não diferiram estatisticamente (Tabela 05).

Segundo trabalhos de PEZZATO et al. (2002), BOMBARDELLI et al. (2004), MEURER et al. (2005) e MOYA et al. (2005), a melhor forma de se alimentar tilápias do Nilo nas fases larval e juvenil é com a ração farelada, apresentando melhores índices de crescimento e ganho de biomassa quando alimentos com rações de diâmetros entre 0,35 e 0,50 mm.



T20 - 20 dias de administração; **T30** - 30 dias de administração de; **T40** - 40 dias de administração.

D0 - 0 mg de MT (testemunha); **D30** - 30 mg de MT; **D45** - 45 mg de MT; **D60** - 60 mg de MT

FIGURA 04. Médias de Taxa de Crescimento Específico aos 90 dias de experimentação.

A análise de variância e as médias da variável fator de condição (K) estão apresentadas na Tabela 03. Observou-se que não houve interferência dos tratamentos para esta variável. A média geral de K dos tratamentos foi de 0,0164.

Para o cálculo do fator de condição (K) obtidos da relação peso/comprimento foi utilizado o valor médio da constante ^b calculada apenas para os dados finais do experimento aos 90 dias de experimentação. O valor médio obtido para ^b neste experimento foi de 3,02. Desta forma, segundo PORTELLA et al (2000), os resultados ficariam apenas dependentes das variações dos parâmetros peso e comprimento; portanto, independentes de ^b, assumido como constante.

O valor de ^b de acordo com LE CREN (1951) pode variar entre 2,5 a 4,0. Este coeficiente ^b normalmente difere entre espécies e, às vezes, dentro da mesma espécie, freqüentemente entre os estágios de desenvolvimento da espécie ou devido às variações ambientais e condições nutricionais. Segundo WOOTTON (1990), o valor de ^b

igual a 3,0 indica um crescimento isométrico e valores maiores ou menores que 3,0, crescimento alométrico.

Segundo WEATHERLEY (1987), o fator de condição (K) fornece indicações do grau de atividade alimentar de uma espécie, verificando se ela está ou não fazendo bom uso da fonte alimentar e desta forma podendo indicar o estado de bem estar dos peixes. No presente estudo, observou-se uniformidade dos valores de K (Tabela 03) entre os tratamentos; isto sugere que as condições alimentares, ambientais, e conseqüentemente, o bem estar dos peixes, foram satisfatórios e similares ao final do experimento (90 dias), o que demonstra a qualidade nutricional da dieta comercial que foi oferecida neste período. Este parâmetro não foi avaliado na fase em que as larvas se alimentavam das dietas experimentais microencapsuladas, que apresentavam menor teor protéico e partículas pequenas, o que poderia acarretar diferenças nos valores (K).

Os resultados das análises estatísticas aplicadas aos valores médios de índice gônado-somático (IGS) estão apresentados na Tabela 03; verificou-se que não houve diferença significativa ($P>0,05$) para os fatores. O estudo deste parâmetro neste experimento ocorreu no intuito de avaliar o efeito das doses de hormônio e do tempo de sua administração no desenvolvimento das gônadas dos peixes. Os valores médios dos IGS entre os tratamentos indicaram não ter existido efeito das doses de hormônio, dos tempos de administração e nem da interação entre doses e tempos.

O alto valor do CV deste parâmetro indicou grande variação entre os peixes quanto aos pesos das suas gônadas e seus próprios pesos corporais.

4.3. Sobrevivência e Reversão sexual

Os resultados das análises de variância e os valores médios de sobrevivência aos 40 dias de experimentação (S40), sobrevivência aos 90 dias de experimentação (S90) e da taxa de reversão sexual (TR), estão apresentados na Tabela 06. Observou-se que as médias de sobrevivência aos 40 dias (S40) não foram afetadas ($P>0,05$) por nenhum

dos fatores estudados. Não houve diferença entre a testemunha e os demais fatores para S40 e S90.

LITTLE et al. (1995) relataram sobrevivência de 48,4% na fase de reversão sexual de tilápia do Nilo. SILVA (2004) encontrou sobrevivência de 40% com a utilização de dieta microencapsulada em “spray-dryer” para a reversão sexual. Assim como neste estudo, todos estes valores de sobrevivência podem ser considerados baixos, comparados aos resultados obtidos por outros autores como LEONHARDT (1997); CARVALHO (1996); GALVEZ & MARRISON (1996); PEZZATO (1984); GUILHERME (1990), em trabalhos sobre reversão sexual.

TABELA 06. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias da sobrevivência aos 40 dias (S40) e aos 90 dias (S90) e da taxa de reversão sexual dos juvenis de tilápia do Nilo.

Estatística	Variáveis		
	S40	S90	RV
F p/ testemunha vs fatores	2,37 ^{NS}	0,51 ^{NS}	63,84 ^{**}
Dentro do fatorial:			
F p/ doses (D)	0,96 ^{NS}	7,91 ^{**}	0,50 ^{NS}
F p/ tempos de administração (T)	0,63 ^{NS}	1,22 ^{NS}	1,00 ^{NS}
F p/ interação D x T	0,40 ^{NS}	2,95 [*]	1,63 ^{NS}
CV (%)	16,80	17,46	3,80
Médias para doses do hormônio (mg):			
D30	50,24	28,75	95,14
D45	46,50	24,94	96,67
D60	45,33	20,55	94,98
Médias para tempos de administração (dias):			
T20	45,33	26,33	94,65
T30	47,11	23,11	95,10
T40	49,63	24,81	97,04
Média para Testemunha :			
D0 T40	40,00	26,67	68,21

^{**} Significativo (P< 0,01); ^{*} Significativo (P< 0,05); ^{NS} Não Significativo (P> 0,05)

Durante a fase de reversão sexual, particularmente a partir do oitavo dia de experimentação, houve um acentuado aumento na taxa de mortalidade das larvas, onde foi confirmada a presença de ectoparasitas monogenéticos que comprometeram a sobrevivência dos peixes. O aparecimento do parasita possivelmente ocorreu devido às

particularidades da dieta microencapsulada que pode não ter assegurado as exigências nutricionais das larvas deixando-as susceptíveis a doenças. Desta forma, a baixa taxa de sobrevivência pode estar associada ao parasita. A ocorrência da parasitose também pode, segundo UFODIKE & MADU (1986) estar associada ao estresse de manejo durante a fase de tratamento hormonal.

Em um estudo realizado por SILVA (2004) utilizando dietas microencapsuladas e também a dieta farelada para reversão sexual de larvas de tilápia do Nilo, foi obtida a maior média de sobrevivência (73%) na fase de reversão sexual no tratamento em que as larvas receberam dieta farelada com hormônio, que diferiu significativamente do grupo de peixes alimentados com as dietas microencapsuladas, e a micro-dieta processada em “spray dryer” apresentou a menor taxa de sobrevivência (40%).

Na Tabela 06, os valores de F para a sobrevivência aos 90 dias mostraram-se significativos para o efeito das doses ($P < 0,01$) e observou-se interação ($P < 0,05$) entre doses do hormônio e tempos de administração. Desta forma, os resultados estão melhor apresentados na Tabela 07, que mostra a interação dos fatores.

TABELA 07. Médias de sobrevivência aos 90 dias de experimentação (S90) no estudo das interações entre doses do hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas e os tempos de sua administração.

Tempos de administração (dias)	<i>Doses do Hormônio na dieta (mg.kg⁻¹)</i>			
	0	30	45	60
20	-	27,33 Ba ^{1/}	27,33 Aa	24,33 Aa
30	-	24,33 Ba	26,00 Aa	19,00 Aa
40	26,67	34,59 Aa	21,50 Ab	18,33 Ab

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

A Tabela 07 demonstra que a maior média de sobrevivência, neste segundo período, foi destacadamente proporcionado pela dieta com 30 mg de 17- α -metiltestosterona.kg⁻¹ da microdieta, administrada por 40 dias (34,59 %).

Em geral, no período em que os peixes só receberam a dieta comercial (sem hormônio), houve mortalidade ainda sensível em todas as parcelas experimentais consequência do ocorrido na primeira fase.

VERA CRUZ & MAIR (1994) e GUERREROIII & GUERRERO (1997) afirmaram que o metiltestosterona não tem efeito sobre a sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual, contradizendo PANDIAN & SHEELA (1995) que afirmaram que os tratamentos que envolvem esteróides na reversão sexual de peixes resultam em baixas taxas de sobrevivência.

Em relação à taxa de reversão sexual (RV), a análise de variância apresentada na Tabela 06, demonstrou efeito significativo ($P < 0,01$) apenas para o contraste entre a testemunha e os demais fatores. O grupo de peixes alimentados com a dieta testemunha sem hormônio apresentou proporção sexual de 68,21% de machos e 31,79% de fêmeas. Esta relação foi independente de qualquer fator, pois as larvas foram escolhidas para compor este tratamento de maneira aleatória dentro do lote. Não foi verificada a presença de animais intersexo neste experimento. Em trabalhos realizados com reversão sexual, como nos de CARVALHO (1985); AL-ABLANI & PHELPS (1997); BEARDMORE et al (2001) e SILVA (2004), os autores verificaram as relações entre machos e fêmeas próximas de 1:1.

Segundo POPMA & LOVSHIN (1996), o percentual de machos depois do tratamento hormonal ocasionalmente pode estar em torno de 80%, o que é considerado baixo. No presente estudo, as médias da taxa de reversão sexual para todos os tratamentos mostraram valores altos, apenas com diferença significativa entre a testemunha e os tratados. Mesmo assim, percebeu-se tendência de maior reversão sexual com a dose de 45mg (96,67%) e com o tempo de administração de 40 dias (97,04%).

Estudando o efeito da reversão de sexo em larvas de tilápia do Nilo, CARVALHO (1985) determinou que a dose de 30 mg de 17- α -metiltestosterona/kg de dieta em dietas fareladas, por períodos de 40 e 60 dias, foi considerada a mais efetiva, resultando em 100% de machos e maiores incrementos de comprimento e peso dos indivíduos.

Já no estudo desenvolvido por PEZZATO (1984), ficou demonstrado que embora o tratamento hormonal tenha aumentado a taxa de mortalidade das larvas, esta não invalidou a técnica de reversão sexual. O autor afirmou que 30 mg de 17- α -metiltestosterona.kg⁻¹ de ração foi eficiente para a obtenção do monossexo de tilápia do Nilo (100% machos), aplicado durante um período de 60 dias em larvas de três dias de idade, e que o grupo de machos revertidos apresentou maior peso corporal, demonstrando o efeito benéfico do hormônio masculinizante sobre o ganho em peso.

Por não haver diferença significativa na proporção de machos entre os tratamentos com hormônio, sugere-se utilizar dietas microencapsuladas contendo a menor dose de hormônio (30 mg) e o menor tempo de administração (20 dias), que garantiram ótimos valores de reversão sexual, resultando em aproximadamente 95% de machos em todos os tratamentos.

Pode-se inferir que as larvas consumiram as dietas microencapsuladas contendo hormônio, mesmo não tendo um bom crescimento na fase de reversão sexual. A ingestão das dietas microencapsuladas contendo as diferentes doses de hormônio, reverteu o sexo das larvas, resultando em altas taxas de reversão sexual.

VERA CRUZ e MAIR (1994) avaliaram o efeito do 17- α -metiltestosterona na dose de 40 mg.Kg⁻¹ de ração sobre a sobrevivência e crescimento da tilápia do Nilo e viram que o andrógeno não afetou as variáveis durante o período de tratamento, resultando em 95,4% de machos.

A baixa resposta em crescimento, durante a reversão sexual possibilitou a disponibilidade do hormônio para agir nas gônadas e reverter o sexo dos peixes.

4.4. Classes de tamanho

As análises de variância da porcentagem de peixes, porcentagem de machos, peso e comprimento total dos juvenis de tilápia separados por classes de tamanho e as suas médias estão apresentados na Tabela 08 e representadas graficamente nas Figuras 05, 06, 07 e 08, respectivamente. Observou-se diferenças estatísticas entre os animais separados por classes de tamanho para as quatro variáveis, nas subparcelas.

Nas parcelas, somente houve efeito significativo da testemunha com os demais fatores para a variável % de machos e para as demais variáveis não houve diferenças estatísticas para nenhum dos fatores estudados.

TABELA 08. Valores de F obtidos nas análises de variância e médias da porcentagem de peixes, porcentagem de machos, peso (g) e comprimento (cm) de juvenis de tilápia do Nilo por classe de tamanho.

Estatística	Variáveis			
	% peixes	% machos	peso (g)	comprimento (cm)
F p/ testemunha vs fatores	0,67 ^{NS}	38,45**	3,32 ^{NS}	4,16 ^{NS}
F p/ doses (D)	1,67 ^{NS}	0,74 ^{NS}	0,82 ^{NS}	2,35 ^{NS}
F p/ tempos de administração (T)	0,19 ^{NS}	2,13 ^{NS}	1,46 ^{NS}	2,57 ^{NS}
F p/ D x T	2,09 ^{NS}	4,29 ^{NS}	0,33 ^{NS}	1,02 ^{NS}
CV parcelas (%)	13,55	8,53	18,52	4,94
F p/ classes de tamanho (CL)	9,50**	28,32**	451,36**	947,20**
F p/ CL x Tt	1,42 ^{NS}	10,82**	4,55*	4,49*
F p/ CL x D	3,98**	0,36 ^{NS}	0,22 ^{NS}	0,66 ^{NS}
F p/ CL x T	2,93*	3,87*	0,74 ^{NS}	2,41 ^{NS}
F p/ CL x D x T	2,21 ^{NS}	3,06*	0,41 ^{NS}	0,93 ^{NS}
CV subparcelas (%)	38,10	6,73	13,69	3,43
Médias para doses de hormônio (mg):				
D30	33,33	96,13	10,52	8,04
D45	34,78	94,87	11,34	8,27
D60	37,50	94,33	12,01	8,52
Médias para tempos de administração (dias):				
T20	34,61	94,13	11,33	8,24
T30	36,00	94,45	11,84	8,46
T40	34,78	97,07	10,55	8,09
Médias para classe de tamanho (cm):				
Maiores que 9	32,48	98,44	19,41	10,29
Entre 7 e 9	44,86	88,22	8,96	8,02
Menores que 7	26,28	92,91	3,87	6,07
Médias para testemunha:				
D0 T40	33,33	67,18	9,62	7,87
Média geral	35,13	95,15	11,25	8,26

** Significativo (P < 0,01); * Significativo (P < 0,05); ^{NS} Não Significativo (P > 0,05).

A Figura 05 representa o número de peixes (%), através de médias ponderadas obtidos nas três classes de tamanho e mostra que a maior quantidade de peixes (44,86%) apresentou tamanho intermediário (entre 7 e 9 cm), seguido pelos peixes de maior tamanho (maiores que 9 cm).

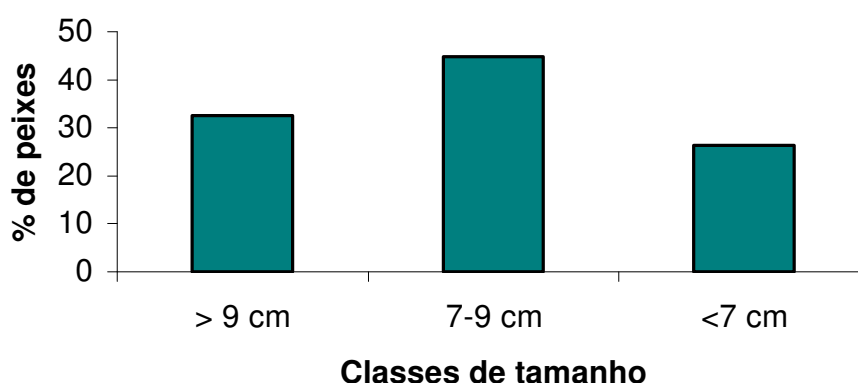


FIGURA 05. Médias de número de peixes (%) por classes de tamanho.

A Tabela 08 mostra efeitos significativos das interações entre classes de tamanho e doses do hormônio ($P < 0,01$) e classes de tamanho e tempos de administração ($P < 0,05$) para a variável porcentagem de peixes. Os desdobramentos das interações estão apresentados nas Tabelas 09 e 10, respectivamente.

TABELA 09. Médias de porcentagem de peixes no estudo da interação entre classes de tamanho e doses de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.

Doses (mg)	Classes de tamanho (cm)		
	Maiores que 9	Entre 7 e 9	Menores que 7
30	24,44 Bb ^{1/}	47,72 Aa	27,83 Ab
45	32,51 ABa	38,41 Aa	33,23 Aa
60	44,23 Aa	46,82 Aa	13,40 Ab

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Através da Tabela 09 e Figura 06, observa-se que independente da dose do hormônio, a classe de tamanho intermediária (7-9 cm) apresentou a maior porcentagem de peixes. Considerando-se as doses de hormônio, notou-se que com a maior dose do hormônio obteve-se a menor porcentagem de peixes de tamanho inferior e que a porcentagem de peixes de maior tamanho (> 9cm) aumentou quanto maior foi a dose do hormônio.

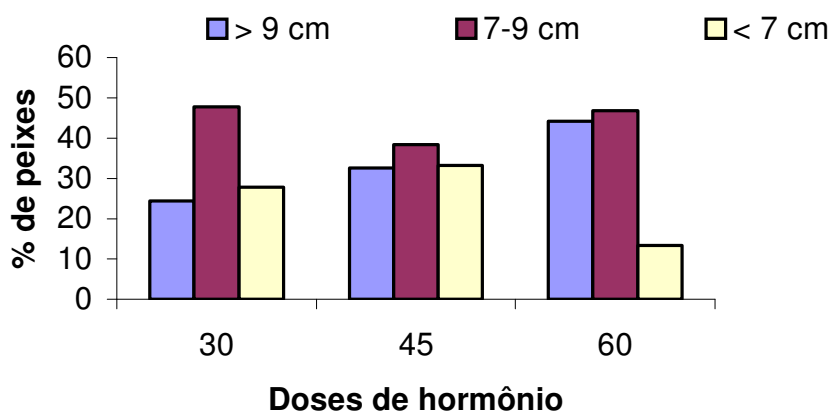


FIGURA 06. Médias de porcentagem de peixes por classes de tamanho na interação com as doses do hormônio.

Na Tabela 10 e Figura 07 observou-se a menor porcentagem de peixes de tamanho inferior (<7 cm) com o tempo de administração de 20 dias. As maiores porcentagens de peixes ocorreram com indivíduos da classe de tamanho intermediário e nesta classe de tamanho não houve diferença significativa entre os tempos de administração. A quantidade de peixes pequenos (< que 7 cm) aumentou quanto maior foi o tempo de administração das dietas microencapsuladas.

TABELA 10. Médias de porcentagem de peixes no estudo da interação entre classes de tamanho e tempos de administração de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.

Tempos de administração (dias)	Classes de tamanho (cm)		
	Maiores que 9	Entre 7 e 9	Menores que 7
20	35,11 Ab ^{1/}	49,50 Aa	17,30 Bc
30	39,92 Aab	42,15 Aa	23,05 ABb
40	25,37 Aa	41,66 Aa	37,68 Aa

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

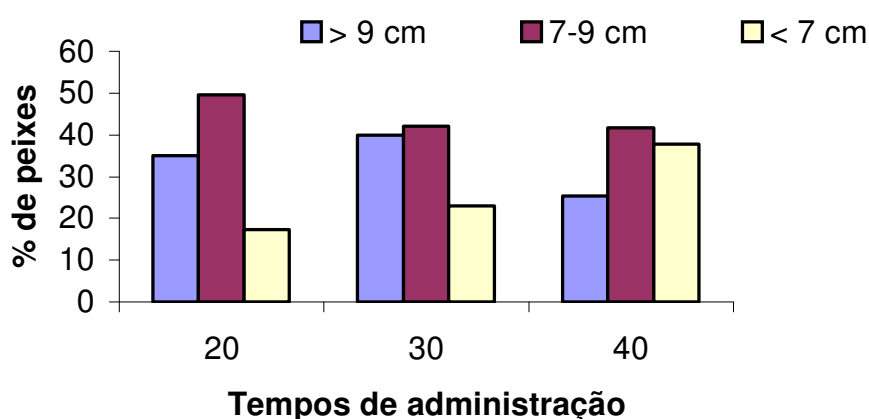


FIGURA 07. Médias de porcentagem de peixes por classes de tamanho na interação com tempos de administração.

A análise estatística apresentada na Tabela 08 mostrou efeito significativo ($P < 0,01$) das classes de tamanho para a variável % de machos. As médias de porcentagem de machos sobre as classes de tamanho estão representadas na Figura 08 e mostram que a maior porcentagem de machos (98,44%) ocorreram com os peixes

maiores que 9 cm, seguida pela porcentagem de machos (92,91%) correspondente aos peixes de tamanho inferior (<7cm).

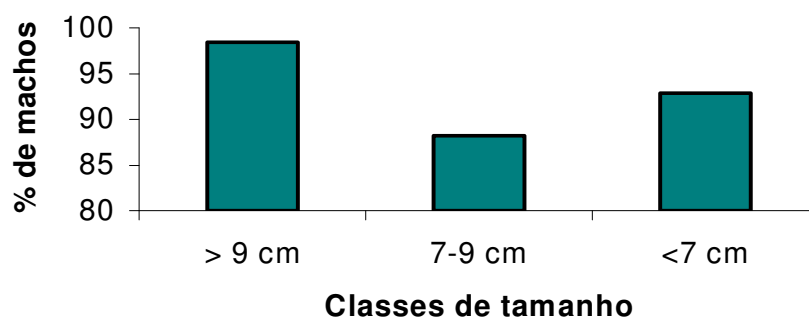


FIGURA 08. Médias de porcentagem de machos por classes de tamanho.

No estudo da interação entre classes de tamanho e tempos de administração (Tabela 11) observou-se a menor porcentagem de machos com o menor tempo de administração (20 dias) na classe de tamanho intermediária (entre 7 e 9 cm) (Figura 09).

TABELA 11. Médias de porcentagem de machos no estudo da interação entre classes de tamanho e tempos de administração de hormônio masculinizante em dietas microencapsuladas.

Tempos de administração (dias)	Classes de tamanho (cm)		
	Maiores que 9	Entre 7e 9	Menores que 7
20	97,75 Aa ^{1/}	85,28 Ab	100,00 Aa
30	100,00 Aa	90,30 Aa	92,66 Aa
40	98,44 Aa	97,08 Aa	95,51 Aa

^{1/} Médias seguidas de mesma letra (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

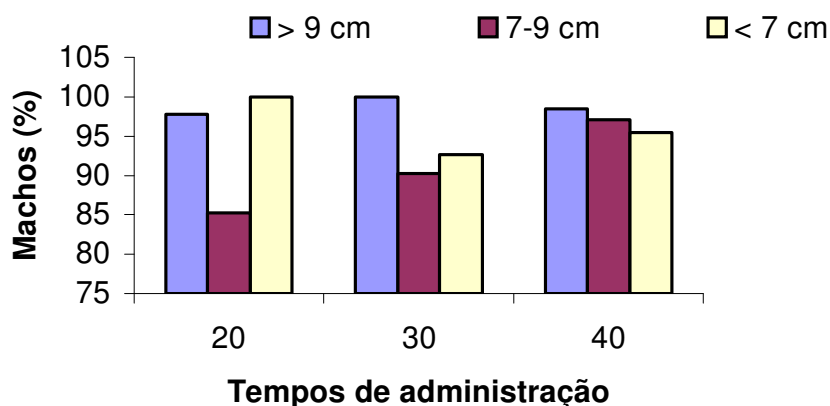


FIGURA 09. Médias de porcentagem de machos por classes de tamanho na interação com tempos de administração.

Nas análises de variância para o peso (g) e para comprimento total (cm), apresentadas na Tabela 08, observou-se efeito significativo somente para classes de tamanho e interação com a testemunha. Os peixes na classe de tamanho maiores que 9 cm apresentaram média de peso (19,41g), entre 7 e 9 cm (8,96g) e os menores que 7 cm (3,87g) e a média de peso dos animais do tratamento testemunha foi de 9,62 g (Tabela 08).

A distribuição dos comprimentos em classes de tamanho foi realizada com sucesso, uma vez que houve diferenças entre as classes, mas não entre os tratamentos (doses de hormônio e tempos de administração). As médias de comprimento total nas classes de tamanho maiores que 9 cm, entre 7 e 9 cm e menores que 7 cm foram: 10,29; 8,02 e 6,07 cm, respectivamente. Os animais do tratamento testemunha apresentaram média 7,87cm de comprimento total (Tabela 08).

5. CONCLUSÕES

Com base nas condições experimentais, os resultados alcançados permitiram que fossem elaboradas as seguintes conclusões:

- a baixa resposta em crescimento na fase de reversão sexual pode ter ocorrido pela granulometria pequena das dietas microencapsuladas, mas possibilitou a disponibilidade do hormônio para agir nas gônadas e reverter o sexo dos peixes;
- independente das doses do hormônio utilizadas nas dietas microencapsuladas e dos tempos de sua administração, foram obtidas altas taxas de reversão sexual (em torno de 95 %) para todos os tratamentos;
- a utilização da dieta microencapsulada contendo a menor dose do hormônio (30 mg) e o maior tempo de administração (40 dias) proporcionou alta taxa de reversão sexual e a maior média de sobrevivência aos 90 dias de experimentação;
- o estudo dos resultados de reversão sexual dos alevinos de tilápia por classes de tamanho, surpreendentemente mostrou altas porcentagens de machos também para os peixes de menor tamanho, independentemente das doses e dos tempos de administração do hormônio.

6. REFERÊNCIAS

- AFONSO, L. O. B.; LEBOUTE, E. M. Método para a sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4., 1993, Porto Alegre, Brasil, **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 1993. p.100-103.
- AL-ABLANI, S. A.; PHELPS, R. P. Sex reversal in black crappie *Pomoxis nigromaculatus*: effect of oral administration of 17- α - methyltestosterone on two age classes. **Aquaculture**, Amsterdam. v. 158, p. 155-165, 1997.
- AMJAD, S., JONES D. A. An evaluation of artificial larval diets used in the culture of penaeid shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius). **Journal of Zoology**, Pakistan, v. 24 n. 2, p. 135-142, 1992.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association of Official Agricultural Chemists**. 15th. ed. Arlington, 1990. 1298 p.
- BARD, J. Piscicultura intensiva das tilápias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 67, p. 24-29, 1980.
- BASKERVILLE-BRIDGES, B.; KLING, L. J. Development and evaluation of microparticulate diets for early weaning of Atlantic cod *Gadus morhua* larvae. **Aquaculture Nutrition**, v.6, n. 3, p. 171-182, 2000.
- BEARDMORE, J. A.; MAIR, G. C.; LEWIS, R. I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems and prospects. **Aquaculture**, Amsterdam. v.197, p. 283-301, 2001.
- BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FORNARI, D. C. Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por banhos de imersão e o andrógeno dissolvido em solução de dimetilsulfóxido (DMSO). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 209-215, 2004.
- BORGES, A. M. Produção de populações monossexo macho de tilápia do Nilo da linhagem Chitralada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 153-159, 2005.
- BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Auburn: Auburn University, 1990. 482 p.
- BRAZEL, C. S. Microencapsulation: Offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, v. 44, n. 6, p. 388-393, 1999.

- CAHU, C.; ZAMBONINO-INFANTE, J. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. **Aquaculture**, v. 200, n. 2, p. 161-180, 2001.
- CARRASCO, L. A. P.; PENMAN, D. J.; VILLALOBOS, S. A. The effects of oral administration with 17 α -methyltestosterone on chromosomal synapses in *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). **Mutation Research**, v. 430, p. 87-98, 1999.
- CARRILO, M. A. **Indução à tetraploidia em tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus* utilizando-se choque térmico**. 2004. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.
- 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**. 1985. 166 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Recursos Hídricos) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1985.
- CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Reversão sexual em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* Trewavas, 1983, induzida por 17- α -metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. **Revista Brasileira de Biologia**; v. 2, p. 249-262, 1996.
- DILAURO, M. N.; KRISSE, W. F. Growth and survival of Lake Sturgeon larvae fed formulated diets. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 60, p. 293-296, 1998.
- DONALDSON, E. M.; FAGERLUND, V. H. M.; HIGGSDA 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.
- ENSMINGER, M. E.; OLENTINE, C. G. **Feeds & nutrition**. California:Ensminger Publishing Company, 1980. 1417 p.
- FAGERLUND, U. M. H.; DYE, H. M. Depletion of radioactivity from yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) after extended ingestion of anabolically effective dose of 17- α -metiltestosterona – 1,2 – H. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 18, p. 303-315, 1979.
- FERMIN, A. C.; RECOMENTA, R. D. Larval rearing of bighead carp, *Aristichthys nobilis* Richardson, using different types of feed and their combinations. **Aquaculture and Fisheries Management**, v.19, n.3, p.283-290, 1988.
- FERNANDEZ-DÍAZ, C.; YÚFERA, M. Detecting growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae feed microcapsule. **Aquaculture**, Amsterdam. v.134, p. 257-268, 1997.
- 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 trembolone acetate in sex inversion on the blue tilapia *Oreochromis aureus*. **World Aquaculture Society** v. 27, p. 483, 1996.

GIBAS, B. F., KERMASHA, S., ALLI, I., MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: A review. **International Journal Food Sciences and Nutrition** v. 50, n.3. p. 213-224, 1999.

GREEN, B. W.; TEICHERT-CODDINGTON, D. R. Human food safety and environmental assessment of the use 17 α methyltestosterone to produce male tilapia in the United States. **Journal World Aquaculture Society**, v. 31, n. 3, p.337-357. 2000.

GUERRERO, I. I. I.; GUERRERO, I. A. Effects of androstenedione and methyltestosterone on *Oreochromis niloticus* fry treated for Sex reversal in outdoor net enclosure. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE. 4., 1997 Orlando – USA. v.12, p. 772-777. 1997.

GUERRERO, R. D.; SHELTON, W. L. An acetato-carmin squash method for sexing juvenile fishes. **The Progressive Fish – Culturist**, Alabama, v. 36, n.1, p. 56, 1974.

GUILHERME, L. G. **Efeitos da mesterolona na inversão do sexo em *Oreochromis niloticus***. 1990. 49 f., Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES C. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para tilápia Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 3, p. 733 –737, 1999.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R; MEURER, F. Desempenho de larvas de carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*), alimentadas com plâncton, ração micropelletizada, farelada e pastosa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p.1419.

HIGGS, D. A.; FAGERLUND, U. H. M.; EALES, J. G.; MC BRIDE, J. R. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. **Comp. Biochemical. Physiol.** v. 73B, p. 143-176, 1982.

HIOTT, A. E.; PHELPS, R.P. Effects of initial age and size on sex reversal of *Oreochromis niloticus* fry using methyltestosterone. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 112, p. 301-308, 1993.

HUNTER, G. A., DONALDSON, E. M. Hormonal sex control and its application to fish culture. In: Hoar E. M. ; Randall W. S.; , Donaldson D. J. Ed: Fish physiology, New York, Academic Press, 1983. v 9, p. 223-303.

KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; INAMORI, S.; SUMIDA, S.; IWASHITA, T. Rearing of larvae red seabream and ayu with artificial diets. **Mem. Fac. Fish.** v.31, p. 185-192, 1988.

KANAZAWA, A. Micro particulate feeds for peneid larvae. Advances in Tropical Aquaculture, Tahiti. Feb,20-March 4. AQUACOP. IFREMER. Actes de Colloque, p.395-404, 1989.

KOVALENO, E. E.; D'ABRANO, L. R.; OHS, C. L.; BUDDINGTON, R. K. A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn. *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, Amsterdam. v. 210, p. 385-35, 2002.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1997. 74 p.

LE CREN, E. D. The length – weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch (*Perca fluviatilis*). **Journal Animal Ecology**. v 20, n. 14, p. 201–209, 1951.

LEONHARDT, J. H. **Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1957)**. 1997. 128 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista , Jaboticabal, 1997.

LITTLE, D. C.; LIN, C. K.; TURNER, W. A. Commercial scale tilapia fry production Thailand. **World Aquaculture**. v.26, p. 21-24, 1995.

LOVELL, R.T. Feeding tilapia. **Aquaculture Magazine**, Asheville, v. 21, n. 3, p. 87-91, 1999.

LUND, V. X. ; FIGUEIRA, M. L. O. *Criação de tilápias*. São Paulo: Livraria Nobel, 1989. 63 p.

MAINARDES-PINTO, C. S. R. et al. Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17- α -metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v. 29, n. 3 p. 654-659, 2000.

MAKINO, L. C. **Validação dos métodos de identificação do sexo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1757), revertidas com rações contendo diferentes granulometrias e de diferentes idades**. 2005. 30 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

MANGWAYA, C. N. Influence of methyltestosterone on early growth and sex reversal of *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Cent**, Port Harcourt, Nigéria, p.62, 1986.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 566-573, 2002.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R. Influência do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 262 – 267, 2003.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C. M. Grau de moagem dos alimentos em rações para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 81-85, 2005.

MOYA, C. F.; NAKAGHI, L.S.º; KOBERSTEINT, C. R. D.; MALHEIROS, E. B.; ZAIDEN, S. F. Avaliação histológica do desenvolvimento bucal e sua cronologia para testar a eficiência de diferentes granulometrias da ração no desempenho de tilápias do Nilo. **Acta Scientiarum** (artigo no prelo), Maringá, 2005.

NAGY, A. ; BERCSENYI, M.; CSANYI, V. Sex reversal carp (*Cyprinus carpio*) by oral administration of methyltestosterone. **Journal Fish Aquatic Sciencie**. v. 18, p. 725-728, 1981.

NEUMANN, E. **Características do desenvolvimento inicial de duas linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* e uma híbrida *Oreochromis* sp.** 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

OHS, C. L.; D'ABRAMO, L. R.; BUDDINGTON, R. K.; ROBNRTTE, H. R.; ROETHKE, J. M. Evolution of a spray dried artificial diet for larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*, and striped bass, *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**. v.4, p. 73-82, 1998.

OSTROWSKI, A. C.; GARLING, D. L. JR. Effect of 17 α - metiltestosterona treatment and withdrawal on growth and dietary protein utilization of juvenis rainbow trout fed practical diets varying in protein level. **Journal World Aquaculture Society**. v. 18, p. 71-77, 1987.

PANDIAN, T. J.; SHEELA, S. G. Hormonal induction of sex reversal in fish. **Aquaculture**, Amsterdam. v.138,p. 1-22, 1995.

PEDROZA ISLAS, R. Alimentos microencapsulados : Particularidade de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de espécies acuicolas. In: CRUZ-SUÁREZ, L. E.; RIEQUE-MARIE, D. TAPIA-SALAZAR, M.; GAXIOLA-CORTÉS, M.G.; SIMONES, N. (Ed.) Avances em nutrición acuicola VI. Memórias del VI SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUICOLA. 3 al 6 setiembre del 2002. Cancun. Quintana Rôo, México.

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 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; FURUYA, W. M.; PINTOL, G. Q.; BARROS, M. M.; ROSA, G. J. M. Diâmetro do ingrediente e a digestibilidade aparente de rações para duas espécies de peixes tropicais. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 901-907, 2002.

PHELPS, R. P.; SALAZAR, G. C.; ABE, V. Sex reversal and nursery growth of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*, L.), free-swimming in earthen ponds. **Aquaculture Research**, n.26, p.293-295, 1995.

PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture**, Amsterdam v.197, p. 229-281, 2001.

PIFERRER, F.; DONALDSON, E. M. Sex control in Pacific salmon. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R.J. (Ed): **Recent advances in aquaculture**, vol. IV, Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993. p. 67-77.

POPMA, T. J.; GREEN, B.W. **Sex reversal of tilapia in earthen ponds**. Aquacultural Production Manual. Auburn, Alabam. Research and Development. Series n. 35, 15 p. 1990.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. **Worldwide prospects for commercial production of Tilapia**, International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Auburn, Alabam. Research and Development. Series n. 41, 23 p. 1996.

PORTELLA, M. C.; VERANI, J.R.; CESTAROLLI, M. A. Use of live and artificial diets enriched with several fatty acid sources to feed *Prochilodus scrofa* larvae and fingerlings. 1. Effects on survival and growth rates. **Journal. Aquaculture. Tropical**. v. 15, n. 1, p. 45-58, 2000.

PSZCZOLA, D. E. Encapsulated ingredients: providing the right fit. **Food Technology**, v. 52, n. 12:, p. 70-77, 1998.

QUIN, J.; FAST, A. W.; DEANDA, D. Growth and survival of larval snakehead (*Channa striatus*) fed different diets. **Aquaculture**, v.148, n.2/3, p.105-113, 1997.

SANTIAGO, C. B.; ALDABA, M. B.; REYES, O.S. Influence of feeding rate and diet from on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Aquaculture**, v. 64, p. 277-282, 1987.

S.A.S INSTITUTE. SAS/ETS. User's guide, version 6.2nd ed. Cary, NC, 1993. 1022 p.

SILVA, C. A .H. **Utilização de dietas microencapsuladas para reversão sexual de larvas de tilápia de Nilo (*Oreochromis niloticus*)** 2004. 47 f. Dissertação. (Mestrado em Aquicultura)-Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

SIMONE, D. A. The effects of the synthetic steroid 17-alfa-methyltestosterone on the growth and organ morphology of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**. Amsterdam. v. 84, p. 81-93, 1990.

SMITHERMAN, R. O.; BERHRENDTS, M. Effects of dietary 17 α -methyltestosterone on sex reversal and growth of *Oreochromis aureus*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, 2. 1988 Bangkok: Department of Fisheries, 1988. p.7-13.

TACHIBANA, L.; CASTAGNOLLI, N.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; VALLE, J. B.; SIQUEIRA, M. Desempenho de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 305 – 311, 2004.

TESSER, M. B.; PORTELLA, M. C. Degradation analysis of microencapsulated diet in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) larvae intestine through scanning electron microscopy (SEM). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1 p. 49-52, 2003.

UFODIKE, E. B. C.; MADU, C. T. Effects of methyltestosterone on food utilization and growth of *Sarotherodon niloticus* fry. **Bull Jpn. Soc. Fish.** v. 52, p. 1919-1922, 1986.

VERA CRUZ, E. M.; MAIR, G. C. Conditions for effective androgen sex-reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 237-248, 1994.

VOLPATO, G. L. et al. Heterogeneous growth in fish: some data in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and a general view about causal mechanisms. **Boletim de Fisiologia Animal**, São Paulo, v. 13, p. 7-22, 1989.

WASSERMAN, G. J.; AFONSO, L. O . B. Validação da técnica do acetato-carmim para avaliar o sexo de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 133-139, 2002.

WASSERMAN, G. J.; AFONSO, L. O . B. Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) by androgen immersion. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 65-71, 2003.

WATANABE, M. **Resíduo de cervejaria na ração para recria de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanque-rede, Pirassununga, SP: produção e qualidade.** 2001. 80 f. Dissertação (Mestrado em Concentração de Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2001.

WEATHERLEY, A. H.; GILL, H. S. **The biology of fish growth.** Academic Press, 1987. 443 p.

WOOTTON, R. J. **Ecology of teleosts fishes.** London: Chapman and Hall, 1990. 404 p.

YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W.S.; RANDALL D.J., (Ed),: **Fish Physiology**, New York: Academic Press, 1969. v. 3. 485p.

YAMAZAKI, F. Sex control and manipulation in fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v.33, p.329-354, 1983.

YÚFERA, M.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. PASCUAL, E. Feeding rates of gilthead seabream (*Sparus aurata*), larvae on microcapsules. **Aquaculture**, Amsterdam, v.134, p. 257-268, 1995.

YÚFERA, M.; SARAQUETE, M. C.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. Testing protein walled microcapsules for the rearing of first-feeding gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. **Mar. Freshwater Res.** v. 47, p. 211-216, 1996.

YÚFERA, M.; PASCUAL, E.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. A highly efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. **Aquaculture**. Amsterdam. v. 177, p. 249-256, 1999.

YÚFERA M .; KOLKOVSI, S.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C.; RINCHARD, J. LEE, K. J.; DABROWSKI, K. Delivering bioactive compounds to fish larvae using microencapsulated diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 277, p. 277-291, 2003.