

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Características do desenvolvimento inicial de duas  
linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* e uma linhagem  
híbrida de *Oreochromis* sp.**

**Erika Neumann**  
Bióloga

Jaboticabal – São Paulo - Brasil  
2004

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Características do desenvolvimento inicial de duas  
linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* e uma linhagem  
híbrida de *Oreochromis* sp.**

Erika Neumann  
Orientador: Prof. Dr. Francisco Manoel de Souza Braga  
Co-orientadora: Dra. Teresa Cristina R. Dias Koberstein

Dissertação apresentada ao Centro de  
Aqüicultura da UNESP, como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Mestre em Aqüicultura – Área de  
Concentração em Aqüicultura de Águas  
Continentais.

Jaboticabal – São Paulo - Brasil  
Fevereiro de 2004

***O destino não é uma questão de sorte;  
é uma questão de escolha. Não é algo pelo que  
se espera, mas algo que se alcança.***

Robin Williams

*Dedico este trabalho à minha família, principalmente a meus pais, que são exemplos de coragem e perseverança, que acreditam em meus ideais e me incentivam a conquistá-los, mesmo que a conquista aumente a distância entre nós. Junto à minha família, aprendi que a felicidade e a realização de um indivíduo na sociedade não dependem daquilo que as grandes cidades têm a oferecer, mas sim, das coisas simples e belas que podemos compartilhar com as pessoas que amamos e com a natureza.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Francisco Manoel de Souza Braga, pela orientação, confiança, paciência, ensinamentos e oportunidades que possibilitaram meu crescimento profissional e intelectual.

À Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein, não só pela orientação, confiança, ensinamentos e experiências profissionais compartilhadas, mas também pela sua amizade, perseverança, companheirismo, disposição, alegria e bom astral constantes.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UNESP – CAUNESP, por possibilitar o crescimento acadêmico e intelectual voltado à Aquicultura em Águas Continentais.

Ao Prof. Keshyiu Nakatani, meu primeiro orientador, responsável pelo meu ingresso na iniciação científica e pela minha paixão pelo desenvolvimento inicial de peixes.

Ao Prof. João Batista K. Fernandes, pelas sugestões dadas na ocasião da qualificação.

À Profa. Laura Satiko Okada Nakaghi, pelas sugestões dadas na ocasião da qualificação e por possibilitar o uso de espaço, materiais e equipamentos do Laboratório de Morfologia. Agradeço também à Lílian e ao Sr. Orandir pelas colaborações.

Aos técnicos e colegas do Setor de Carcinicultura do CAUNESP, pela disponibilização do laboratório, empréstimo e orientação sobre uso de equipamentos.

À Profa. Lúcia Sipaúba Tavares, pelo empréstimo de equipamentos utilizados nas análises de água.

Aos técnicos e funcionários do CAUNESP: Márcio Alves, Márcio Reche e Sílvia, que auxiliaram nos trabalhos de campo, em especial ao Sr. Mauro, por nunca ter deixado de ajudar durante alguns imprevistos, mesmo fora do horário de expediente. Também à Veralice, Fátima, Dona Ana, Elisandra, Suerlí, Mônica, Donizete e Auta, que contribuíram para direcionar, facilitar e tornar viável o cotidiano caunespiano.

A todos os professores que ministraram disciplinas junto ao curso de Pós-Graduação do CAUNESP, por compartilharem conhecimentos e experiências.

A CAPES, pelo apoio financeiro, imprescindível para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas caunespianos: Virgínia, Antônio Francisco, Maurício, Cláucia, Carla, Rosângela, Adriana Muñoz, Carolina, Ana Elisa, Leonardo, Camilo, Lílian e Verônica, que direta ou indiretamente apoiaram e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A todas as demais pessoas, que mesmo não citadas, estiveram presentes em minha vida de mestrandia e colaboraram com sua amizade, companheirismo e paciência.

A Cristo, por me acompanhar e iluminar meu caminho, sempre me dando forças para seguir em frente.

**SUMÁRIO**

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....</b>	vii
<b>RESUMO .....</b>	1
<b>ABSTRACT.....</b>	2
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	3
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	8
<b>RESULTADOS .....</b>	14
<b>DISCUSSÃO .....</b>	35
<b>CONCLUSÕES .....</b>	55
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	57

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
<p><b>Figura 1</b> - Distribuição de freqüência do diâmetro dos ovos obtidos nas três linhagens de tilápia (diâmetros descritos correspondem ao maior valor de cada intervalo).....</p>	15
<p><b>Figura 2</b> - Distribuição de freqüência (F) da altura do saco vitelínico (SV) observada em larvas de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha, desde o primeiro ao oitavo dia de vida (diâmetros descritos correspondem ao maior valor de cada intervalo).....</p>	17
<p><b>Figura 3</b> - Desenvolvimento das linhagens de tilápia, em linhas: 1 - pré-eclosão; 2 - um dia; 3 - quatro dias; 4 - oito dias; 5 - dezesseis dias; 6 - vinte e cinco dias. Linhagens em colunas: A - nilótica; B - tailandesa; C - vermelha. Escala = a barra (—) corresponde a 1mm.....</p>	20
<p><b>Figura 4</b> - Relações lineares entre de comprimento da cabeça (CC) e comprimento do tronco (TR), diâmetro do olho (DO) e comprimento total (CT), altura do corpo (AC) e comprimento total, observados durante o desenvolvimento larval das linhagens nilótica, tailandesa e vermelha, obtidos a partir de dados logaritmizados (ln) .....</p>	22
<p><b>Figura 5</b> - Comparação dos coeficientes angulares (b) e respectivos intervalos de confiança para “stanzas” das relações diâmetro do olho (DO) x comprimento total (CT), comprimento da cabeça (CC) x comprimento do tronco (TR) e altura do corpo (AC) x comprimento total (CT), entre as linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V).....</p>	25

<b>Figura 6</b> - Relação peso e comprimento total (CT) observada durante o desenvolvimento larval das linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), obtida a partir de dados logaritmizados (ln).....	25
<b>Figura 7</b> - Comparação dos coeficientes angulares (b) de “stanzas” da relação peso (P) x comprimento total (CT), entre as linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), com seus respectivos limites máximos e mínimos.....	27
<b>Figura 8</b> - Taxa de crescimento instantâneo (G) em peso e comprimento total (CT) observada em larvas das três linhagens durante o desenvolvimento inicial.....	28
<b>Figura 9</b> - Fator de condição médio observado em juvenis das três linhagens de tilápia aos 90 dias de idade.....	30
<b>Figura 10</b> - Média de taxa de crescimento instantâneo (G) em peso e comprimento total (CT) observada em juvenis das linhagens de tilápia nilótica (N), tailandesa(T) e vermelha (V) aos 90 dias de idade.....	31
<b>Figura 11</b> - Taxa de mortalidade total (Z) de juvenis das linhagens de tilápia nilóticas (N), tailandesas (T) e vermelhas (V) ao final do experimento (90 dias). * Mortalidade total.....	34
<b>Tabela 1</b> - Peso total de fêmeas (Peso ♀), fecundidade por lote ( $F_L$ ), fecundidade relativa ( $F_R$ ) e diâmetro médio de ovos (D.O.), seguidos de médias e variâncias ( $S^2$ ) obtidas em cada linhagem analisada.....	16

<b>Tabela 2</b> - Dados obtidos de valores logaritmizados das relações lineares entre altura do corpo (AC) e comprimento total (CT), comprimento da cabeça (CC) e comprimento do tronco (TR), diâmetro do olho (DO) e comprimento total, observados no desenvolvimento larval das linhagens (L) de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha, para cada “stanza” (ST) identificada.....	24
<b>Tabela 3</b> - Dados da relação ln peso/ln comprimento total observados no desenvolvimento larval das linhagens (L) de tilápia nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), para cada “stanza” (ST) identificada.....	26
<b>Tabela 4</b> – Dados da relação ln peso/ln comprimento total observados em juvenis das linhagens de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha aos 90 dias de idade .....	29
<b>Tabela 5</b> – Dados de comprimento total (CT), peso e sexo, seguidos de médias (M) e variâncias ( $S^2$ ) obtidas em juvenis das linhagens (L) de tilápia nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V) aos 90 dias de idade, revertidos com 17- $\alpha$ -metiltestosterona.....	32
<b>Tabela 6</b> – Número de larvas (n) aos 8 dias ( $N_0$ ) de idade, densidade (peixe/m <sup>3</sup> ) e taxa de sobrevivência (S) aos 15, 30, 60 e 90 dias de idade nas linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V).....	33

## RESUMO

O estudo da morfologia combinado com a discriminação morfométrica do crescimento em peixes permite observar transformações correlacionadas durante a ontogenia das espécies. Visando determinar variações intraespecíficas de tilápias submetidas à reversão sexual e contribuir com programas de melhoria de criação, neste estudo são descritas as características dos estágios iniciais de desenvolvimento de duas linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* (nilótica comum e tailandesa), e uma linhagem híbrida de *Oreochromis* sp (vermelha). Para a descrição do desenvolvimento inicial e efetividade da reversão sexual, as larvas foram alimentadas desde a eclosão até trinta dias de vida com 17- $\alpha$ -metiltestosterona incorporado à ração (60mg/kg). As três linhagens de tilápia foram analisadas considerando-se três tratamentos e seis repetições. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. A linhagem tailandesa apresentou o melhor resultado quanto a fecundidade por lote, porém não diferiu de nilótica quanto a fecundidade relativa, que teve a menor média em vermelha. A linhagem nilótica sobressaiu-se quanto ao diâmetro médio de ovos e, conseqüentemente, quanto ao tamanho de larvas recém eclodidas e do saco vitelino destas. Também foram observadas diferenças quanto ao comprimento da cabeça, que teve maior incremento em tailandesas; ao padrão de pigmentação em listas verticais, que ocorreu primeiro em nilóticas em relação a tailandesas; e à formação de nadadeiras, que foi tardia em tailandesas. Ao final de 90 dias de idade, a taxa de sobrevivência em nilóticas superou tailandesas em 40,00% e vermelhas em 24,00%, enquanto a taxa de crescimento instantâneo foi similar em nilóticas e tailandesas, e sensivelmente inferior em vermelhas, que apresentou o maior valor de fator de condição. O percentual de machos foi decrescente na ordem nilótica, tailandesa e vermelha (98,73%, 96,23% e 89,46%, respectivamente,  $P < 0,05$ ). Considerando todos os parâmetros analisados, a linhagem nilótica apresentou melhor desempenho e foi mais eficiente em termos produtivos.

**Palavras-chave:** *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis* sp, desenvolvimento morfológico, 17- $\alpha$ -metiltestosterona, desempenho.

## ABSTRACT

### Characteristics of the early development of two tilapia strains of *Oreochromis niloticus* and one hybrid strain of *Oreochromis* sp.

The study of fish morphology allied to the morphometric discrimination of growth's fish, allows it to observe correlated changes during the species ontogenesis. Aiming to determine intraspecific variations of tilapias submitted to sex reversal and to contribute to rearing improvement programs, in this study were described the initial stages of development characteristics of two tilapia strains of *Oreochromis niloticus* (common Nile and Thai-chiltralada) and one hybrid strain of *Oreochromis* sp (Red tilapia). For the description of the initial development and the effectiveness of the sexual reversion, larvae were fed from the hatch to thirty days of life with 17-alpha-methyltestosterone incorporated to the ration (60mg/kg). The three tilapia strains were analyzed considering three treatments and six repetitions. The experimental delineation used was completely randomized. The strain Thai-chiltralada has shown the best result to fecundity per lot, thought it has not differed from common Nile for relative fecundity, which had the lowest average in Red. The strain common Nile overtopped as for medium diameter of eggs, consequently, for the size of the larvae at hatching and the yolk sac. Also, were observed differences for the head length, which had the highest increase in Thai-chiltralada; for pigmentation pattern on vertical stripes, that occurred first in common Nile compared to Thai-chiltralada; and for the fin formation, which was late in Thai-chiltralada. At 90 days of life, the survival rate in common Nile has surpassed Thai-chiltralada on 40,00% and Red on 24,00%, while the instantaneous growth rate was similar in common Nile and Thai-chiltralada, and slightly lower in Red, which has presented the highest condition factor value. The decreasing percentual of males was on the order common Nile, Thai-chiltralada and Red (98.73%, 96.23% and 89.46% respectively,  $P < 0.05$ ). Considering all the analyzed parameters, the strain common Nile have the best performance and was more efficient in productive terms.

**Key words:** *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis* sp, morphological development, 17-alpha-methyltestosterone, performance.

## INTRODUÇÃO

As tilápias se constituem numa importante fonte de proteínas. Sua rusticidade, alta taxa de crescimento, resistência à doenças e grande aceitação no mercado por sua qualidade de carne, recomendam-nas para cultivo (Ribeiro, 1996).

Os primeiros exemplares de tilápia chegaram ao Brasil em 1952, quando alguns exemplares de *Tilapia rendallii* foram trazidos do Congo Belga (África), porém sua criação não apresentou resultados satisfatórios. Na tentativa de melhorar a produção por área, em 1971 foram trazidas outras espécies por técnicos do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra Seca) de Fortaleza – Ceará, algumas do gênero *Oreochromis*, que caracterizam-se por desovar em ninhos e as fêmeas incubarem seus ovos e larvas na boca (Pinto, 1988).

As qualidades que levam as tilápias a emergir no cultivo mundial de peixes deparam-se com um entrave, que é a alta capacidade de reprodução, marcada pela maturação precoce, postura freqüente de ovos, baixa competição intraespecífica e, por conseqüência, crescimento lento de fêmeas e superpopulação de tanques (Ribeiro, 1996). Com este problema em vista, foram descritas técnicas visando a obtenção de populações monossexuais masculinas, das quais a mais comum é o tratamento de larvas de tilápias com hormônios masculinizantes, que se resume na manipulação do sexo fenotípico do peixe pelo fornecimento de esteróides.

A reversão sexual em peixes deve começar antes que o tecido gonadal das fêmeas genéticas tenha se diferenciado em ovários (Yamamoto, 1969; Nakamura et al., 1998). Green & Teichert-Coddington (1993) sugerem que larvas de tilápias com comprimento de 9 a 11 mm são adequadas para a masculinização por ainda serem sexualmente indiferenciadas. Segundo os autores, a administração de andrógenos nestes peixes por três ou quatro semanas resulta em uma população com 97% a 100% de machos fenotípicos. Ribeiro (1996) afirma que após o período de reversão poucas larvas tem menos do que 14 mm de comprimento total e sua média de peso deve estar entre 0,1 e 0,3 g. O hormônio na dieta deve ser suspenso quando os testículos estiverem desenvolvidos ao ponto de manter

os níveis de hormônios endógenos numa faixa de normalidade. O momento exato em que o tratamento pode ser interrompido ainda não é definido.

Segundo Nakamura et al. (1998), durante a reversão sexual em peixes, a masculinização da papila genital pode acontecer antes da masculinização das gônadas. Desta forma, um peixe pode parecer macho externamente e internamente se desenvolver em fêmea com ovários. Guerrero & Shelton (1974) afirmam que mesmo o sexo fenotípico já estando definido internamente, características sexuais externas nem sempre são facilmente identificadas em espécimes imaturos, havendo necessidade de determinação sexual subsequente pelo exame de gônadas, a fim de esclarecer se uma alta porcentagem de fêmeas foi devida à reversão sexual incompleta.

Leonhardt (1997) relata que o percentual de machos fenotípicos após o tratamento hormonal da reversão sexual fica acima de 95%, porém ocasionalmente podem ocorrer percentuais de 80% a 90%, sendo que as razões para esta ocasional redução na taxa de reversão ainda não estão claramente entendidas, podendo estar relacionadas ao tamanho/idade adequados para o início do tratamento e ao crescimento muito acelerado dos indivíduos. Pandian & Sheela (1995), afirmam que a maior parte dos trabalhos relacionados à reversão sexual se preocupam com o sucesso ou fracasso dos métodos utilizados, sem uma adequada atenção às taxas de sobrevivência e crescimento dos peixes submetidos à reversão.

Segundo Blázquez et al. (1995) e Pandian & Sheela (1995), a resposta do tratamento hormonal pelo uso de esteróides em doses anabólicas pode resultar na maximização do crescimento de peixes, porém como desvantagem, ocorre a baixa sobrevivência dos indivíduos sexualmente revertidos e a supressão do crescimento causada pelo uso de doses excessivas ou por uso prolongado de hormônios.

O efeito da reversão sexual sobre a sobrevivência, o crescimento e o percentual de machos fenotípicos obtidos após o tratamento hormonal com esteróides pode ser diferencial não só entre espécies diferentes, como também entre linhagens de uma espécie. Em um experimento feito por Smith & Phelps (1996), larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

tiveram crescimento superior durante a reversão sexual quando comparadas com larvas de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp).

Diferentes respostas à reversão sexual observadas entre linhagens de tilápia podem ser influenciadas por variações de conotação linhagem específica quanto ao estágios iniciais de desenvolvimento. Bhujel (2000), afirma haver uma grande variação dentro e entre linhagens de tilápias em relação à idade da primeira maturação, fecundidade e frequência da desova. Coleman & Galvani (1998), que investigaram diferenças no tamanho de ovos de 26 ciclídeos neotropicais, confirmaram haver variações inter e intraespecífica que, mesmo pequenas, têm consequência significativa na história de vida de larvas eclodidas, em relação às taxas de crescimento, habilidade natatória e tamanho de partícula alimentar ingerida. Bonislawska et al. (2000) sugerem que diferenças quanto ao tamanho de ovos produzidos em peixes merecem atenção principalmente em espécies de valor econômico, tanto devido à influência do tamanho do ovo na quantidade de energia endógena presente em larvas e conseqüentemente na sobrevivência da prole, quanto na adequação de métodos de incubação artificial de ovos.

A qualidade de ovos em peixes pode determinar a qualidade de larvas produzidas. O tamanho dos ovos, quando significa maior volume de reservas energéticas, é um parâmetro de qualidade (Kjorsvik et al, 1990; Brooks et al., 1997; Bonislawska et al., 2001). Ovos grandes produzem larvas grandes (Wootton, 1994), com saco vitelino maior (Gisbert et al., 2000) e com maiores taxas de sobrevivência em relação à larvas provenientes de ovos pequenos (Rana, 1985; Sargent et al., 1987; Zhukinskiy & Gosh, 1988; Duarte & Alcaraz, 1989; Kjorsvik et al., 1990; Chambers & Leggett, 1996; Brooks et al., 1997; Bonislawska et al., 2000). Porém Coleman & Galvani (1998) afirmam que o tamanho do ovos nem sempre está relacionado à quantidade de nutrientes em seu interior, pois ovos maiores podem conter apenas mais água, que é perdida no momento da eclosão. Apesar disto, estes autores observaram correlação positiva entre o tamanho de ovos, de larvas eclodidas e de saco vitelino em ciclídeos neotropicais, tanto entre quanto dentro de linhagens.

O estudo da morfologia das formas iniciais do ciclo de vida dos peixes, combinado com a discriminação morfométrica do crescimento, aumenta a probabilidade de se observar transformações correlacionadas que levam à diferenças morfológicas em jovens e adultos. Ehlinger (1991) afirma que o desafio funcional é, na maioria das vezes, a discriminação estatística de grupos de seres vivos, para poder descrever variações morfológicas dentro de populações, caracterizando estas populações em termos biológicos e, conseqüentemente, em termos produtivos.

O tamanho do corpo fixado em relação a idade é um traço comum a ser observado na performance dos peixes em programas de melhoria de criação (Gall & Bakar, 1999).

De acordo com Peres-Neto (1995), uma das conseqüências do crescimento durante o início do ciclo de vida das espécies é, sem dúvida nenhuma, a alteração nas proporções lineares em relação à área e volume do corpo, sendo que a forma de um organismo é o resultado da integração entre diversas respostas alométricas durante a ontogenia das espécies.

No decorrer do período larval, muitos peixes teleósteos sofrem mudanças dramáticas na forma do corpo, pois muitos sistemas corporais estão incompletos até o momento da eclosão (digestório e respiratório, principalmente), e as mudanças que ocorrem durante o desenvolvimento afetam diretamente o crescimento e a sobrevivência dos espécimes jovens (Blaxter, 1969; Gisbert et al., 2000). A forma morfológica definitiva é assumida após um curto período de vida. Evidências quantitativas dessas transformações são observadas na variação progressiva das proporções morfométricas que ocorrem com o aumento do tamanho dos indivíduos (Fuiman, 1983).

Segundo Ricker (1979), o padrão de crescimento em peixes muda rapidamente no início do desenvolvimento e deve ser mensurado em curtos intervalos de tempo, com a descrição numérica do crescimento sendo mais conveniente quando combinada com a análise de outros parâmetros, como a taxa instantânea de crescimento.

Apesar das tilápias estarem entre os peixes de águas tropicais mais cultivados do mundo, pouco se sabe sobre variações entre linhagens quanto às taxas de fecundidade,

crescimento, sobrevivência e efetividade da reversão sexual. Este estudo tem por objetivo a descrição destas características e da morfologia dos estágios iniciais de desenvolvimento de três linhagens de tilápias exploradas em cultivo: duas de *Oreochromis niloticus* (nilótica comum e tailandesa) e uma híbrida de *Oreochromis* sp (vermelha), a fim de observar transformações morfológicas de conotação linhagem específica que possam ter significância biológica, podendo dar subsídio a programas de melhoria de criação, ao estudo da biologia comparada e aos demais estudos que necessitem da descrição de variações intraespecíficas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Cultivo de Tilápia do Centro de Aqüicultura da Unesp, Jaboticabal – SP - Brasil. Foram utilizadas duas linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* (tilápia nilótica comum e tilápia tailandesa) e uma híbrida *Oreochromis* sp (tilápia vermelha). Os reprodutores foram acondicionados em tanques de alvenaria de 2 m<sup>3</sup>, com água recirculada e aeração contínua, sendo colocados 1 macho para cada 3 fêmeas/m<sup>3</sup>. Duas semanas após a aclimatação, foram coletadas (enquanto incubados na boca das fêmeas de tilápia) doze lotes de ovos de cada linhagem, sendo seis destes individualizados, identificados e fixados em formol a 4%, que foi substituído por álcool etílico 70% após 24 horas, e os demais estocados em incubadoras individuais de 2 litros de capacidade e fluxo de água recirculado e filtrado. Após a eclosão, as larvas passaram, seguindo a corrente do fluxo de água, para bandejas de plástico acopladas à incubadora, iniciando-se então o arraçoamento (2 dias após a eclosão).

As larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia com ração farelada (granulometria= 0,35 mm) contendo 40% de proteína bruta e hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona. A ração com hormônio foi preparada segundo Shelton et al. (1981), com alteração apenas no volume de álcool utilizado para dissolver o hormônio. Uma dose de 60 mg do hormônio foi diluída em 0,5 litro de álcool etílico (os autores citados utilizaram 1,0 litro). Após estar completamente seca, a ração foi armazenada em recipiente fechado à uma temperatura de 8°C. Este processo foi realizado várias vezes ao longo do experimento, sendo preparado apenas um quilo de ração por vez, para evitar o armazenamento por longos períodos e possíveis quedas na qualidade do alimento. A ração foi fornecida à vontade, espalhada pela superfície da água dos diferentes locais em que os peixes foram acondicionados durante a reversão sexual.

Ao final do período de reversão sexual, os juvenis passaram a ser alimentados com ração comercial extrusada (granulometria= 2,80 mm) contendo 35% de proteína bruta, que foi fornecida aos peixes desde 31 a 90 dias de idade. No momento inicial de fornecimento

da ração extrusada (de 31 a 50 dias de idade), esta foi triturada em moinho para a obtenção de grânulos menores facilmente ingeridos pelos peixes.

As larvas permaneceram nas bandejas da incubadora até oito dias após a eclosão (tempo padronizado para ocorrer total absorção do saco vitelino), sendo transferidas para 18 caixas plásticas de 120 litros, com fluxo de água contínuo, ficando neste local até completarem 15 dias de idade, quando cada lote foi estocado em tanques-rede de 2,0 m x 1,0 m x 0,75 m, com malha de 2,0 mm de diâmetro, colocados em tanques de terra de 120 m<sup>2</sup> e abastecidos com água de uma represa de abastecimento, onde permaneceram até completarem 30 dias. Ao final deste período de reversão sexual, o fornecimento de ração com hormônio masculinizante foi interrompido e os tanques-rede utilizados até então foram substituídos por outros de capacidade igual a 1 m<sup>3</sup> e malha de 4 mm, onde os juvenis ficaram até os 90 dias de idade.

A temperatura da água foi monitorada diariamente (termômetro de bulbo de mercúrio) e mantida em 28°C na incubadora. Semanalmente foram analisados pH (potenciômetro digital); condutividade elétrica (condutivímetro digital); oxigênio dissolvido (oxímetro); alcalinidade e amônia (Goltermann et al., 1978).

Para a estimativa da fecundidade pelas linhagens de tilápia, cada um dos seis lotes de ovos fixados em cada linhagem foi integralmente contado, sendo também obtido o peso total de cada fêmea doadora do respectivo lote de ovos. Após a contagem, 100 ovos de cada lote foram analisados morfometricamente. Foram avaliadas a fecundidade por lote ( $F_L$  = número de ovos por lote obtido) e a fecundidade relativa ( $F_R$  = número de ovos em relação ao peso de fêmea doadora do lote de ovos), segundo metodologia descrita por Vazzoler (1996).

Devido ao formato ovóide dos ovos, foram obtidas destas duas medidas: o comprimento (medida entre as extremidades do maior eixo, saindo da base ao pico do ovo) e largura (região mais larga cortando horizontalmente o comprimento). A análise das distribuições de frequência (Fowler et al., 1998) dos diâmetros dos ovos foi feita utilizando-se a média de diâmetro obtida entre as medidas de comprimento e largura dos ovos.

Na análise de dados sobre peso médio de fêmeas,  $F_L$ ,  $F_R$  e diâmetro médio de ovos para cada linhagem de tilápia, foi aplicada uma descrição de amostras, estimando-se médias e variâncias para cada linhagem. Aplicou-se o teste de homogeneidade de Cochran (Mendes, 1999) às variâncias. Amostras com variâncias heterogêneas foram analisadas pela prova não paramétrica de Kruskal-Wallis (Fowler et al., 1998), seguindo-se de um teste “a posteriori” de Dunn (Vanzolini, 1993); as amostras com variâncias homogêneas foram analisadas com uma ANOVA - one-way, seguindo-se do teste “a posteriori” de Tukey (Fowler et al., 1998), adotando-se em ambos os casos como significância  $P=0,05$ .

Para análise do desenvolvimento inicial, a partir da eclosão foram realizadas amostragens de 15 larvas de cada linhagem, sendo adotado o seguinte critério amostral: a primeira amostragem em larvas de 1 a 12 dias, coletas com um dia no berçário 1, com dois dias no berçário 2 e assim sucessivamente. Na segunda etapa foram amostradas larvas de 13 a 28 dias, coletadas com 13 dias no berçário 1, 16 dias no berçário 2, até larvas com 28 dias no berçário 6. A terceira etapa com larvas de 29 a 54 dias, obtidas com 29 dias no berçário 1, com 34 dias no berçário 2 até 54 dias no berçário 6.

A efetividade da reversão sexual foi verificada aos 90 dias de experimento, quando todos os juvenis de cada repetição das linhagens foram fixados, com posterior verificação do comprimento total, ganho de peso, sobrevivência e efetividade da reversão. Cada amostra de larvas e juvenis, ao ser coletada, foi individualizada por coleta e fixada em formol a 4%, que foi substituído por álcool etílico a 70% após 24 horas nas larvas e 48 horas nos juvenis.

Para avaliar o crescimento relativo durante o desenvolvimento larval, de cada larva fixada foi obtido o comprimento total, o diâmetro do olho, a altura do corpo, o comprimento da cabeça (Ahlstrom et al, 1976), a altura do saco vitelino (medida que foi tomada na mesma tangente vertical de altura do corpo e correspondeu ao eixo entre o ventre e o limite visível entre vitelo e intestino), o comprimento do tronco (correspondeu ao comprimento total menos o comprimento da cabeça) e também o peso total (obtido em balança de precisão com aproximação de centésimos de grama). As medidas lineares foram obtidas sob estereomicroscópio com ocular micrométrica, utilizando-se como unidade o milímetro (mm).

Com a medida do saco vitelino foi feita uma distribuição da frequência (Fowler et al., 1998) da altura do saco vitelino desde a eclosão até sua total absorção. Medidas de saco vitelino com menos 1 mm de altura não foram mensuradas devido a dificuldade de visualização externa do limite entre vitelo e intestino.

A morfologia dos ovos e larvas das três linhagens de tilápia foi descrita ao longo do experimento e registrada em esteromicroscópio de câmara clara, com as modificações surgidas sendo destacadas e comentadas.

Os dados morfométricos obtidos das larvas (com exceção da altura do saco vitelino) foram logaritimizados (log natural), sendo feitas correlações lineares através da equação alométrica  $y=ax^b$ , que após transformação logarítmica passou a ser  $\ln Y = \ln A + B \ln X$ , sendo Y a variável dependente, X a variável independente, A o valor em logaritmo do intercepto e B o coeficiente angular, que em estudos morfométricos é denominado coeficiente alométrico (Peres-Neto, 1995). Os conceitos de alometria e isometria foram definidos pela análise do coeficiente angular (B) na correlação entre X e Y: se B foi igual a 1 a correlação foi isométrica; se B foi maior que 1 a correlação foi alométrica positiva; se B foi menor que 1 a correlação foi alométrica negativa (Peres-Neto, 1995). O desvio de B ( $S_b$ ) e o coeficiente de correlação (r) foram estimados pelos métodos de análise de regressão (Vanzolini, 1993). As correlações foram: diâmetro do olho (Y) e comprimento total (X); altura do corpo (Y) e comprimento total (X) e comprimento da cabeça (Y) e comprimento do tronco (X). Cada correlação foi representada por um diagrama de dispersão, verificando-se a ocorrência ou não de “stanzas”, que representam uma alteração no valor da taxa de crescimento (Ricker, 1979). As nuvens de pontos obtidas foram ajustadas à uma linha reta a partir da equação alométrica descrita.

Para definir a isometria-alometria o valor de B foi testado estatisticamente através da expressão  $t_B = |B-1|/S_b$ , sendo B o valor do coeficiente angular e  $S_b$  o desvio de B. O resultado da expressão foi verificado em um teste monocaudal com n-2 graus de liberdade (Fowler et al., 1998), no qual foi confirmado o valor de B igual, menor ou maior que 1. Para comparar as “stanzas” entre si numa correlação ou a mesma correlação entre as variedades

de tilápias, foi feito uso do intervalo de confiança de Gabriel, que compara simultaneamente diferentes coeficientes angulares (Sokal & Rohlf, 1981).

A relação peso-comprimento de cada linhagem de tilápia foi observada ao longo do desenvolvimento inicial (até os 54 dias) e em juvenis com 90 dias de idade, utilizando-se o mesmo procedimento feito para relações morfométricas, fazendo-se uso da equação alométrica  $P=aC^b$ , sendo P o peso, C o comprimento e  $a$  e  $b$  constantes já definidas. Por ser uma relação volumétrica, e não mais linear como antes, o valor do coeficiente angular B foi verificado ser igual, maior ou menor que 3 em um teste bicaudal (Fowler et al., 1998).

O fator de condição (K) também foi analisado em duas fases, como descrito na relação peso-comprimento. No decorrer do desenvolvimento o valor de K foi avaliado entre “stanzas” de uma mesma linhagem de tilápia e entre as linhagens. Aos 90 dias de idade o valor de K foi obtido para verificar o desempenho dos juvenis. O K alométrico, utilizado neste estudo, correspondeu ao valor da constante  $a$  da equação alométrica descrita (Braga, 1986, 1993, 1997).

A taxa de crescimento instantâneo (G) foi avaliada pela fórmula  $G=\ln W_2-\ln W_1/t_2-t_1$  e  $G=\ln L_2-\ln L_1/t_2-t_1$ , sendo  $\ln W_2$  e  $\ln W_1$  os logaritmos dos pesos médios,  $\ln L_2$  e  $\ln L_1$  os logaritmos dos comprimentos totais médios, ambos em instantes distintos, e  $t_2$  e  $t_1$  esses instantes (Riker, 1979). Este parâmetro foi analisado durante todo o desenvolvimento larval, tomando-se como unidade de tempo as amostragens das larvas e juvenis. As taxas de crescimento instantâneo em peso e comprimento, analisadas ao longo do tempo, foram submetidas a uma prova não-paramétrica de Friedman (Siegel, 1975), que analisa dados correlacionados, adotando-se como significância  $P=0,05$ .

Para análise do desempenho das três linhagens aos 90 dias de vida, dados sobre peso, comprimento total e proporção de sexos foram submetidos à uma descrição de amostras, estimando-se as médias e as variâncias dos parâmetros analisados para cada variedade de tilápia. Devido ao diferente número de repetições das linhagens nesta fase do desenvolvimento, aplicou-se às variâncias um teste de homogeneidade de Bartlett (Mendes, 1999), seguido de uma prova não-paramétrica de Kruskal-Wallis, para médias com

variâncias heterogêneas, e de uma one-way ANOVA com posterior teste de Tukey (Fowler et al., 1998) para médias com diferenças significativas e variâncias homogêneas, adotando-se como significância  $P=0,05$ .

O sexo das tilápias submetidas à reversão (exame microscópico das gônadas) foi determinado em juvenis de 90 dias idade pelo método do acetato-carmin (Guerrero & Shelton, 1974), com os valores absolutos de cada sexo sendo transformados em porcentagem.

A análise da mortalidade por linhagem foi feita utilizando-se da expressão  $N_t=N_0.e^{-Zt}$ , sendo  $N_t$  o número de larvas no instante  $t$ ,  $N_0$  o número inicial de larvas (do qual foi subtraído o número de indivíduos retirados em cada coleta),  $Z$  a taxa instantânea de mortalidade total e  $t$  o intervalo de tempo analisado (Santos, 1978). O parâmetro  $Z$  foi estimado pela expressão  $S=N_t/N_0= e^{-Zt}$ , sendo  $S$  a sobrevivência de larvas no fim do experimento e  $Z$  obtida pelo desenvolvimento da expressão utilizando-se logaritmo (Braga, não publicado). Para tal análise, durante o período de experimento os indivíduos foram integralmente contados aos 8, 15, 30, 60 e 90 dias de idade.

A somatória de larvas coletas nas amostragens foi de 120 larvas entre o 1° e 7° dia de vida, 75 larvas do 8° ao 15° dia, 105 larvas entre 16° e 30° dia e 60 juvenis entre 31° e 54° dia, totalizando 360 espécimes amostrados em cada uma das linhagens estudadas.

As três linhagens de tilápia foram analisadas considerando-se três tratamentos e seis repetições. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

## RESULTADOS

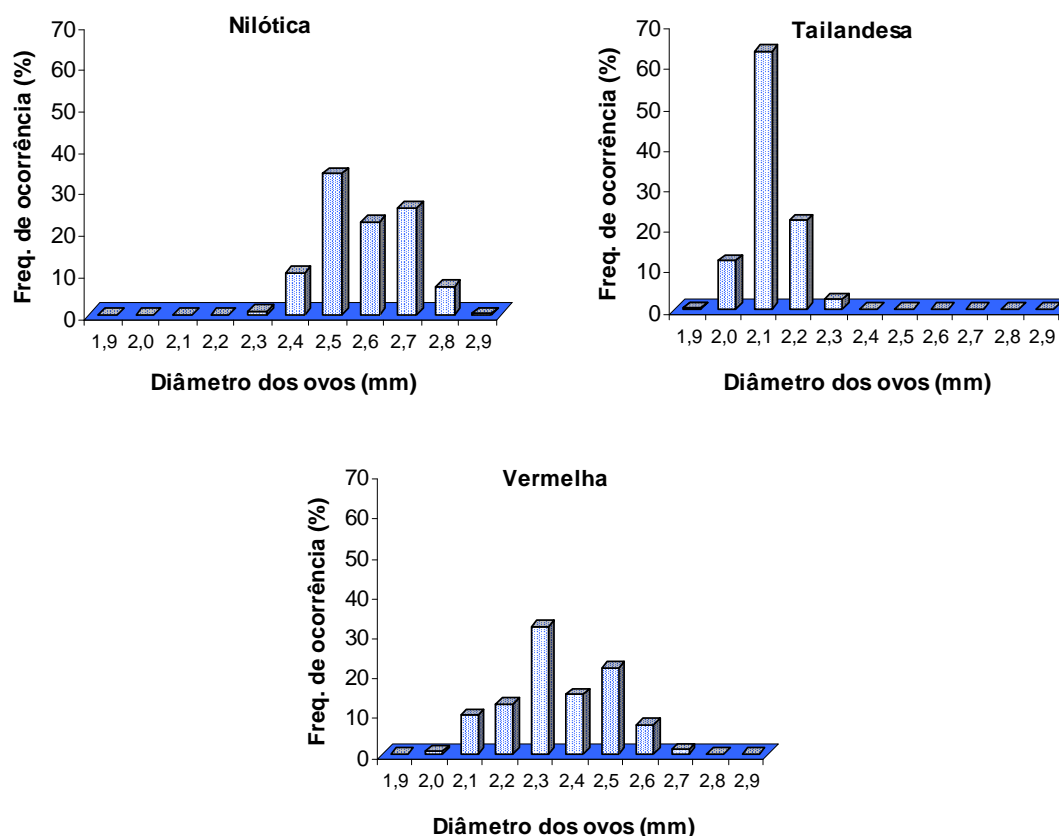
### Parâmetros Limnológicos

A análise das variáveis limnológicas durante o experimento revelou temperaturas médias da água de  $25,40 \pm 1,27$  °C,  $26,41 \pm 1,41$  °C e  $25,77 \pm 2,85$  °C, respectivamente, nos tanques que acondicionavam os reprodutores, nas caixas onde as larvas ficavam ao sair da incubadora e nos tanques de terra utilizados para acondicionar os tanques-rede. Na mesma ordem de locais, o oxigênio dissolvido teve valores médios de  $5,20 \pm 0,72$  mg/l,  $5,61 \pm 0,47$  mg/l e  $5,77 \pm 1,43$  mg/l; a condutividade elétrica de  $77,89 \pm 57,14$   $\mu$ S/cm,  $158,35 \pm 14,54$   $\mu$ S/cm e  $37,57 \pm 12,12$   $\mu$ S/cm; a alcalinidade de  $71,25 \pm 41,30$  mg/l,  $119,70 \pm 17,40$  mg/l e  $40,57 \pm 4,20$  mg/l; a amônia teve médias de  $0,98 \pm 0,55$  mg/l,  $1,06 \pm 0,79$  mg/l e  $1,45 \pm 1,64$  mg/l; e a médias de pH foram  $6,60 \pm 0,70$ ,  $6,57 \pm 0,87$  e  $6,56 \pm 0,56$ . Na incubadora a temperatura da água foi mantida em 28 °C, o oxigênio dissolvido teve média de  $6,45 \pm 0,42$  mg/l, a condutividade elétrica de  $149,27 \pm 16,47$   $\mu$ S/cm, a alcalinidade de  $126,18 \pm 16,77$  mg/l, a amônia teve média de  $0,22 \pm 0,27$  mg/l, e a média de pH foi de  $7,70 \pm 0,86$ .

### Ovos e fecundidade

A análise morfométrica de ovos das três linhagens de tilápia, representada pela distribuição de frequência do diâmetro dos mesmos (Figura 1), revelou haver diferença no tamanho dos ovos entre linhagens.

Em nilóticas, 82,10% dos ovos amostrados tiveram diâmetro entre 2,41 e 2,70 mm, sendo esta a linhagem com os maiores diâmetros de ovos observados em relação às demais, ao contrário de tailandesas, que apresentaram os menores diâmetros, com o tamanho dos ovos analisados ficando entre 1,91 e 2,20 mm quase que em sua totalidade (97,30%). Na linhagem vermelha, o diâmetro de ovos foi intermediário quando comparado com nilóticas e tailandesas, com 81,20% dos ovos possuindo diâmetro entre 2,11 e 2,50 mm.



**Figura 1** – Distribuição de freqüência do diâmetro dos ovos obtidos nas três linhagens de tilápia (diâmetros descritos correspondem ao maior valor de cada intervalo).

A Tabela 1 mostra o diâmetro médio de ovos observado em cada amostra de tilápia, com os respectivos valores médios e as variâncias. As variâncias foram homogêneas ( $G=0,63$ ;  $P>0,05$ ) e o teste de Tukey comprovou haver diferenças quanto ao tamanho dos ovos entre as linhagens, com o maior diâmetro sendo observado em nilóticas e o menor em tailandesas.

As médias de  $F_L$  e  $F_R$  também apresentaram variâncias homogêneas ( $G=0,45$  e  $G=0,42$ , respectivamente;  $P>0,05$ ) e a análise de variância mostrou haver diferença em pelo menos duas médias de  $F_L$  ( $F=11,4$ ;  $P<0,05$ ) e de  $F_R$  ( $F=4,39$ ;  $P<0,05$ ).

O teste de Tukey mostrou que o número médio de ovos ( $F_L$ ) foi diferente entre tailandesas e vermelhas, tailandesas e nilóticas, e igual entre vermelhas e nilóticas, sendo sensivelmente maior em tailandesas. O número de ovos produzido por peso de fêmea ( $F_R$ ) foi estatisticamente igual para nilóticas e tailandesas, e inferior em vermelhas.

**Tabela 1** – Peso total de fêmeas (Peso ♀), fecundidade por lote (F<sub>L</sub>), fecundidade relativa (F<sub>R</sub>) e diâmetro médio de ovos (D.O.), seguidos de médias e variâncias (S<sup>2</sup>) obtidas em cada linhagem analisada.

	Variáveis				
	Amostra	Peso ♀ (g)	F <sub>L</sub>	F <sub>R</sub>	D.O.
Nilóticas	1	97	606	6,25	2,58
	2	85	333	3,92	2,47
	3	125	488	3,90	2,67
	4	92	617	6,71	2,40
	5	235	958	4,08	2,46
	6	93	525	5,65	2,63
Tailandesas	1	210	1321	6,29	2,03
	2	220	1158	5,26	2,06
	3	215	637	2,96	2,03
	4	195	934	4,79	2,09
	5	210	1328	6,32	2,07
	6	208	1359	6,53	2,14
Vermelhas	1	195	321	1,65	2,44
	2	146	229	1,57	2,51
	3	140	631	4,51	2,28
	4	195	727	3,73	2,30
	5	106	232	2,19	2,23
	6	135	710	5,26	2,10
Média* (S <sup>2</sup> )	Nilótica	121,17 (3301) a	579 (43411) a	5,08 (1,614) a	2,54 (0,011) a
	Tailandesa	209,67 (71) b	1123 (82013) b	5,36 (1,851) a	2,07 (0,002) b
	Vermelha	152,83 (1255) c	475 (57269) a	3,15 (2,462) b	2,31 (0,022) c

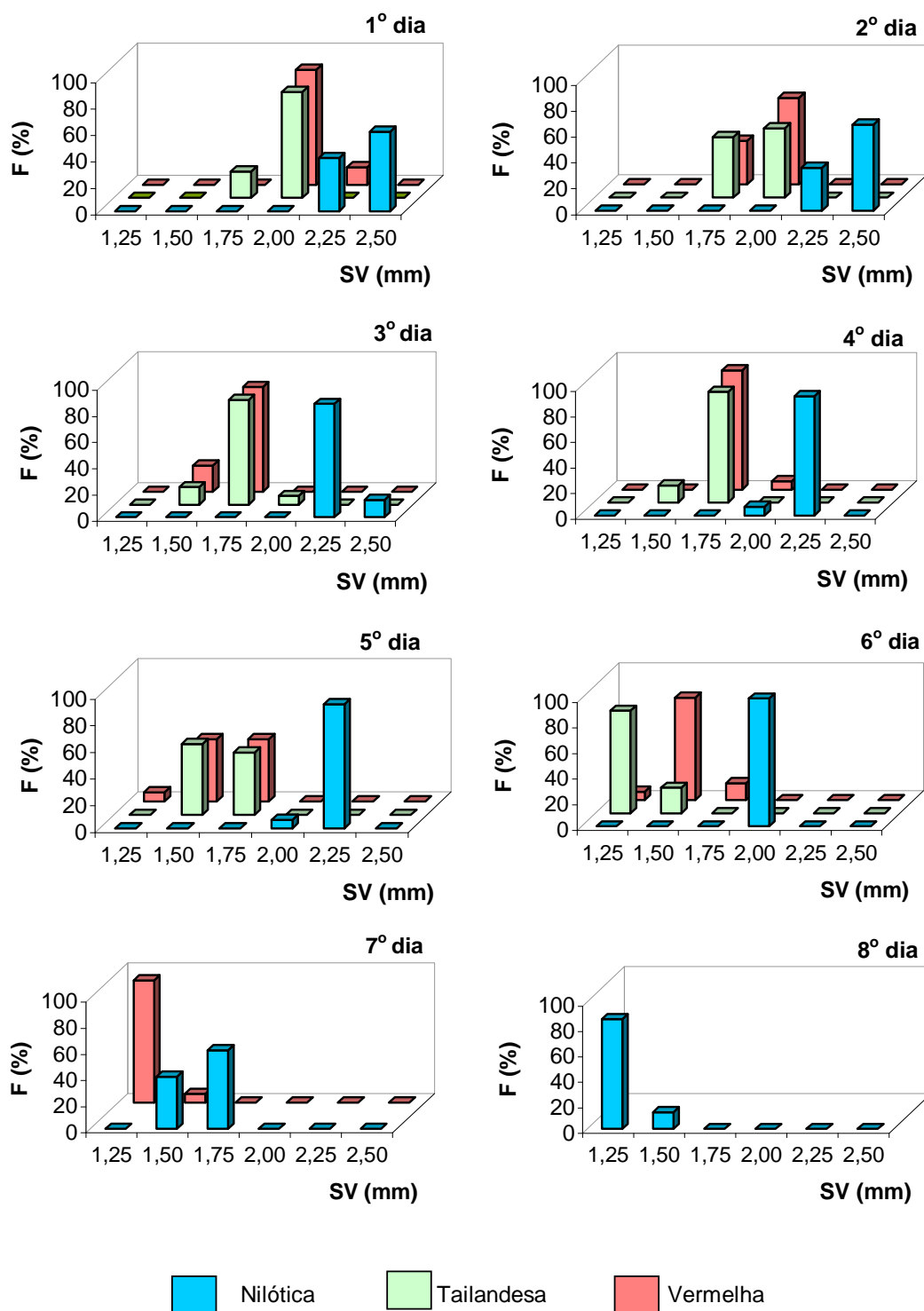
\*Médias em mesma coluna seguidas com a mesma letra não foram significativamente diferentes entre si (P> 0,05) pelos testes de Tukey e Dunn.

O peso médio de fêmeas, descrito na Tabela 1, teve variâncias heterogêneas (G=0,71, P<0,05) e a prova de Kruskal-Wallis mostrou haver diferença entre as linhagens em pelo menos duas médias ( $\chi^2 = 8,22$ ; P<0,05). Aplicando-se o teste a posteriori de Dunn, constatou-se que as três linhagens diferem entre si quanto ao peso de fêmeas.

### **Cronologia de redução do saco vitelino**

No início do desenvolvimento larval, o tempo de utilização de reservas do saco vitelino foi diferente entre as linhagens. As larvas das três linhagens apresentaram diferentes tamanhos de saco vitelino, desde o primeiro dia de vida, com os maiores e

menores diâmetros observados, respectivamente, em nilóticas e tailandesas, enquanto diâmetros intermediários ocorreram em vermelhas (Figura 2).



**Figura 2** – Distribuição de freqüência (F) da altura do saco vitelínico (SV) observada em larvas de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha, desde o primeiro ao oitavo dia de vida (diâmetros descritos correspondem ao maior valor de cada intervalo).

Ao nascer, todas as larvas de nilóticas possuíam saco vitelino superior a 2,00 mm, com esta estrutura ficando entre 2,26 e 2,50 mm em 60% das larvas desta linhagem, enquanto os diâmetros em tailandesas e vermelhas estavam, em sua maioria (80% e 87%, respectivamente), entre 1,76 e 2,00 mm. Até o 4º dia de vida, 93% das larvas de nilóticas ainda apresentavam saco vitelino acima de 2,00 mm, diferente de tailandesas e vermelhas, que já demonstravam considerável redução deste diâmetro, com 87% das larvas de tailandesas e 93% de vermelhas possuindo saco vitelino entre 1,51 e 1,75 mm. No 7º dia, as larvas de nilóticas ainda possuíam saco vitelino com diâmetro entre 1,26 e 1,75mm e em 87% das larvas este diâmetro ficou entre 1,00 e 1,25 mm no 8º dia, deixando de ser visível externamente apenas no 9º dia. Já em tailandesas e vermelhas, o diâmetro ficou entre 1,00 e 1,25 mm na maioria das larvas no 6º e no 7º dia, respectivamente, desaparecendo por completo no 7º dia na linhagem tailandesa e no 8º em vermelhas.

### **Desenvolvimento morfológico inicial**

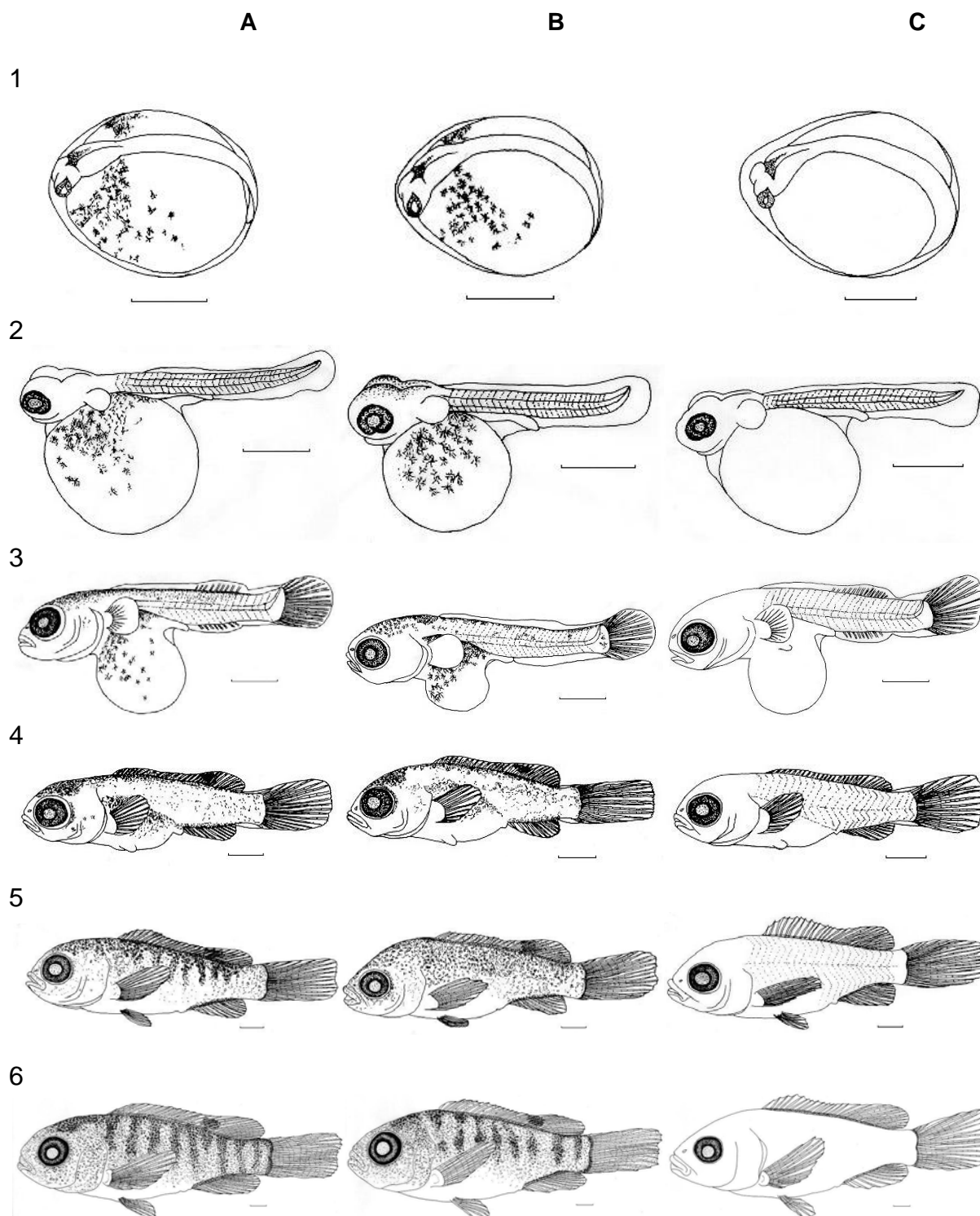
**Ovos:** A morfologia de ovos revelou formato ovóide destas estruturas, de cor amarelo pálido, com grande esfera vitelina e pequeno espaço perivitelino entre o vitelo e o córion, visível só na região caudal e cefálica do eixo embrionário. Nas três linhagens, os ovos coletados já traziam embrião com cauda solta do vitelo e olho bastante pigmentado (Figura 3 – Linha 1), assim como a região dorsal do saco vitelino (com exceção da linhagem vermelha), que era recoberta por melanóforos dendríticos maiores e de coloração mais acentuada em tailandesas em relação a nilóticas.

**De 1 a 3 dias:** Ao nascer (Figura 3 – Linha 2), as larvas de nilóticas, tailandesas e vermelhas possuíam comprimento total médio de  $4,93 \pm 0,09$  mm,  $4,45 \pm 0,26$  mm e  $4,68 \pm 0,20$  mm, respectivamente. Estavam presentes uma farta nadadeira embrionária e o botão da nadadeira peitoral em larvas de todas as linhagens. No 3º dia a membrana envoltória começou a ser delineada para dar lugar às nadadeiras dorsal e anal em nilóticas e vermelhas. Raios na nadadeira caudal iniciaram sua formação no 2º dia de vida em todas as linhagens. Melanóforos eram visíveis na região céfalo-dorsal já no primeiro dia em

tailandesas e no terceiro dia em nilóticas, quando apareceram também ao longo do dorso e intensificaram-se na região superior do saco vitelino. Analisando em estereomicroscópio, o tubo digestório permaneceu incompleto até o 3º dia de vida, com cavidade bucal presente, porém sem passagem de alimento através do trato.

**De 4 a 7 dias:** No 4º dia (Figura 3 – Linha 3) a média de comprimento total foi de  $7,16 \pm 0,12$  mm,  $6,87 \pm 0,26$  mm e  $6,99 \pm 0,29$  mm, em nilóticas, tailandesas e vermelha, respectivamente. O início da formação de raios na dorsal, anal e peitoral foi visualizado nas linhagens nilótica e vermelha. Em tailandesas, as nadadeiras dorsal e anal começaram ser definidas, com a formação de raios nestas e na peitoral começando aos 5 dias. O botão da nadadeira pélvica surgiu aos 4, 5 e 6 dias, respectivamente, em vermelhas, nilóticas e tailandesas. Aos 6 dias restavam apenas vestígios da membrana envoltória no pedúnculo caudal. A pigmentação do olho era completa aos 4 dias e pequenos melanóforos dendríticos começavam a migrar, de forma dispersa, da região dorsal para o resto do corpo em nilóticas e tailandesas. Aos 7 dias as larvas das linhagens pigmentadas estavam recobertas por pequenos “dendritos” espalhados por todo o corpo, inclusive entre os raios das nadadeiras caudal e dorsal, na qual aglomeravam-se para formar uma mácula na parte posterior. Foi observada, no 4º dia de vida em todas as linhagens, a passagem de alimento através do trato digestório, mesmo dia em que a vesícula gasosa começou a inflar, estando totalmente cheia no 6º dia.

**De 8 a 15 dias:** Com 8 dias (Figura 3 – Linha 4) o comprimento total médio foi de  $8,95 \pm 0,22$  mm em nilóticas,  $8,68 \pm 0,23$  mm em tailandesas e  $8,36 \pm 0,37$  mm em vermelhas. Raios apareceram na nadadeira pélvica, em vermelhas, nilóticas e tailandesas, aos 9, 10 e 11 dias, respectivamente. Vestígios da membrana envoltória desapareceram por completo aos 9 dias em todas as linhagens. A pigmentação ficava cada vez mais densa até o 13º dia, quando melanóforos já começavam a se condensar para dar início à listas verticais em nilóticas.



**Figura 3** – Desenvolvimento das linhagens de tilápia, em linhas: 1 - pré-eclosão; 2 - um dia; 3 – quatro dias; 4 - oito dias; 5 - dezesseis dias; 6 – vinte e cinco dias. Linhagens em colunas: A - nilótica; B - tailandesa; C - vermelha. Escala = a barra (—) corresponde a 1mm.

**De 16 a 24 dias:** Aos 16 dias (Figura 3 – Linha 5), a média de comprimento total foi de  $13,20 \pm 0,45$  mm em nilóticas,  $12,52 \pm 1,15$  mm em tailandesas e  $12,70 \pm 1,32$  mm em vermelhas, momento em que as nadadeiras já possuíam raios quase totalmente

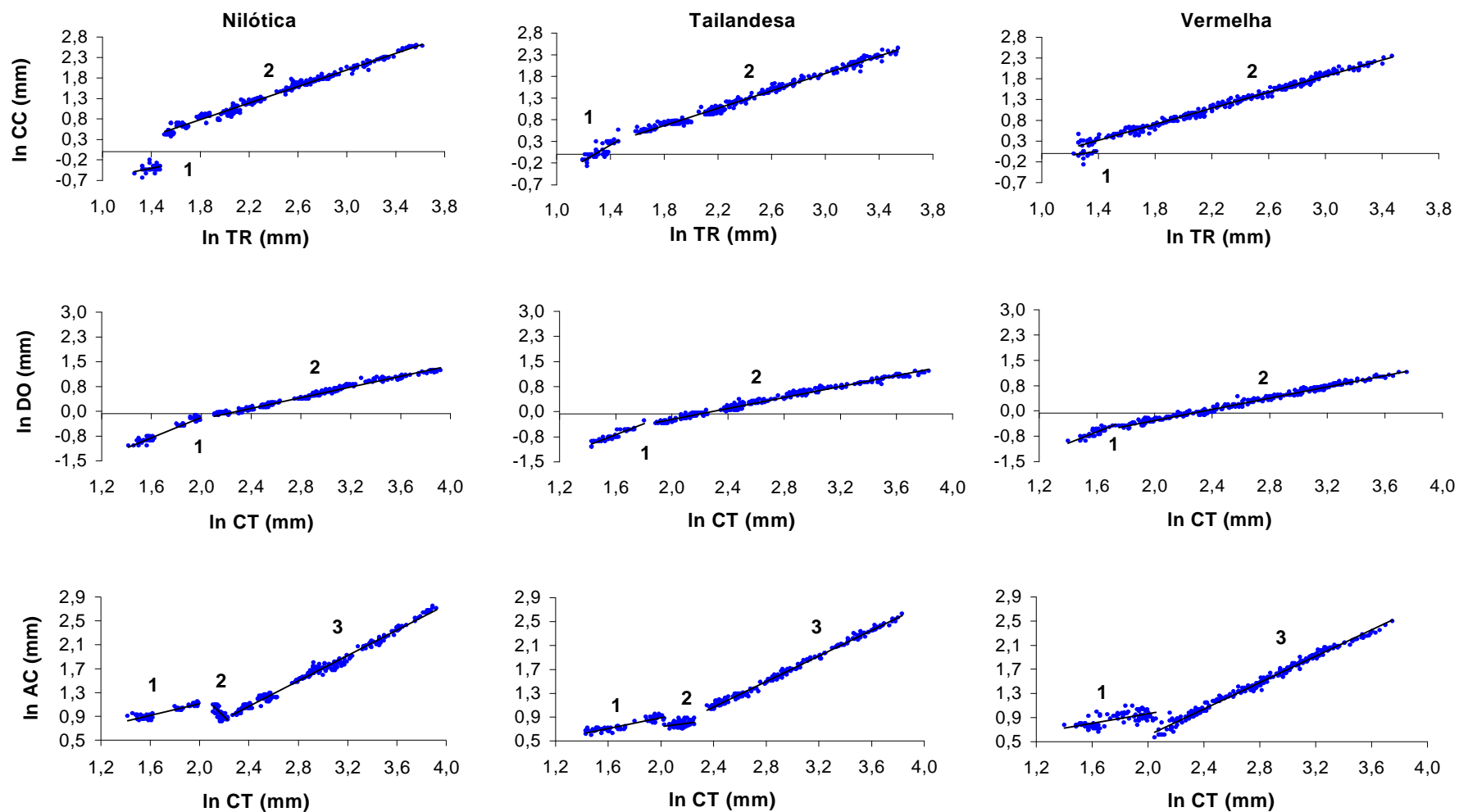
segmentados e iniciava-se a formação de escamas na região posterior das larvas de todas as linhagens. As listas verticais formadas por melanóforos já estavam bem definidas aos 16 dias em nilóticas e foram detectadas apenas aos 19 dias em tailandesas. Entre 19 e 22 dias de idade, todos os indivíduos foram totalmente cobertos por escamas, todas as nadadeiras estavam completamente formadas e todos os peixes das três linhagens possuíam todas as características morfológicas externas de um adulto.

**Aos 25 dias:** A vesícula gasosa permaneceu visível por transparência até o 25º dia (Figura 3 – Linha 6), quando a média de comprimento total foi de  $19,09 \pm 0,84$  mm,  $17,58 \pm 0,97$  mm e  $16,94 \pm 1,88$  mm, respectivamente, em nilóticas, tailandesas e vermelhas. A pigmentação de nilóticas foi caracterizada por nove listas verticais bem definidas e de tailandesas por oito listas não muito organizadas verticalmente no 25º dia. A partir deste dia, as alterações morfológicas ocorridas puderam ser atribuídas apenas ao desenvolvimento muscular e incremento em peso e comprimento.

A Figura 4 apresenta o diagrama de dispersão das correlações lineares e as alterações morfométricas ocorridas durante o desenvolvimento larval das três linhagens de tilápia. Alterações no padrão de crescimento foram observadas em todas as correlações.

O crescimento do comprimento da cabeça em relação ao tronco sofreu uma alteração, que ocorreu entre o 3º e 4º dia de vida em larvas de todas as linhagens, sendo porém pouco acentuado e quase insignificante em vermelhas. Neste mesmo momento, foi observada uma alteração no crescimento do diâmetro do olho em relação ao comprimento total em larvas de tailandesas e vermelhas, o que só ocorreu em nilóticas por volta do 5º dia.

No crescimento da altura do corpo em relação ao comprimento total, ao contrário das outras relações lineares, foram observados dois momentos de mudanças em nilóticas e tailandesas. A primeira alteração nesta relação ocorreu entre o 5º dia em nilóticas e tailandesas, e a segunda alteração foi observada por volta do 8º dia de vida em nilóticas e 10º dia em tailandesas. Em vermelhas só uma alteração foi observada nesta relação, ocorrendo por volta do 8º dia.



**Figura 4** - Relações lineares entre de comprimento da cabeça (CC) e comprimento do tronco (TR), diâmetro do olho (DO) e comprimento total (CT), altura do corpo (AC) e comprimento total, observados durante o desenvolvimento larval das linhagens nilótica, tailandesa e vermelha, obtidos a partir de dados logaritmizados (ln).

Valores do coeficiente alométrico (Tabela 2) indicaram que o comprimento da cabeça cresceu proporcionalmente mais rápido que o comprimento do tronco (alometria positiva) apenas na linhagem tailadesa, em larvas de 4,12 mm a 6,05 mm de comprimento total (“stanza” 1).

Em larvas de todos os tamanhos de nilóticas (“stanzas” 1 e 2) e acima de 6,59 mm em tailadesas (“stanza” 2), a relação entre comprimento da cabeça e comprimento do tronco foi isométrica, com as duas variáveis crescendo na mesma velocidade. Em vermelhas esta relação mostrou-se muito próxima da isometria em quase todas as larvas e todos os tamanhos (“stanza” 2), porém o coeficiente alométrico não pode ser testado no crescimento diferenciado em relação aos outros indivíduos da mesma linhagem, observado em 18 larvas de tamanho inferior a 5,06 mm de comprimento total (“stanza” 1) devido a baixa correlação entre as variáveis ( $r= 0,20$ ;  $P> 0,05$ ). Na mesma linhagem, em larvas de 4,41 mm a 42,58 mm de comprimento total (“stanza” 2), o coeficiente angular indicou alometria negativa, com comprimento da cabeça crescendo menos que comprimento do tronco, porém numericamente esta relação esteve bem próxima da isometria ( $b= 0,97$ ).

O padrão de crescimento de diâmetro do olho em relação ao comprimento total foi desproporcional em todas as larvas analisadas, com diâmetro do olho crescendo mais que comprimento total (alometria positiva) nos primeiros dias de desenvolvimento (“stanza” 1) em todas as linhagens, passando a crescer menos (alometria negativa) a partir de 8,23 mm, 6,59 mm e 5,76 mm de comprimento total, em nilóticas, tailandesas e vermelhas, respectivamente (“stanza” 2) (Tabela 2).

A relação entre altura do corpo e comprimento total foi alométrica negativa em larvas de nilóticas, tailandesas e vermelhas até atingirem 9,27 mm, 9,52 mm e 7,82 mm de comprimento total, respectivamente (“stanzas” 1 e 2 em nilóticas e tailandesas, e “stanza” 1 em vermelhas). Porém, para nilóticas e tailandesas este período foi dividido em duas fases: a primeira em larvas de até 7,34 mm de comprimento em nilóticas e 7,59 mm de comprimento em tailandesas (“stanza” 1), onde numericamente o coeficiente angular foi

maior do que na segunda fase (“stanza” 2), em que foi observada uma sensível redução deste valor principalmente em nilóticas (Tabela 2), mostrando uma queda drástica no crescimento da altura do corpo em relação ao comprimento total nesta linhagem para este momento. Esta queda no crescimento da altura do corpo não foi observada em vermelhas que, comparada com nilóticas e tailandesas, teve uma alteração a menos no padrão de crescimento desta relação. A partir de 9,68 mm, 10,48 mm e 7,98 mm de comprimento total, em nilóticas, tailandesas e vermelhas, respectivamente, a altura do corpo passou a crescer mais rápido que comprimento (alometria positiva) em todas as linhagens (“stanza” 3).

**Tabela 2** – Dados obtidos de valores logaritmizados das relações lineares entre altura do corpo (AC) e comprimento total (CT), comprimento da cabeça (CC) e comprimento do tronco (TR), diâmetro do olho (DO) e comprimento total, observados no desenvolvimento larval das linhagens (L) de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha, para cada “stanza” (ST) identificada.

Relações	L	ST 1				ST 2				ST 3			
		a	b	r	n	a	b	r	n	a	b	r	n
LnCC x LnTR	N	0,29618	0,58 (=1)	0,36*	30	0,35551	1,01 (=1)	0,99*	329				
	T	0,09399	1,85 (>1)	0,80*	45	0,31851	1,00 (=1)	0,99*	313				
	V	0,51283	0,52	0,20	18	0,35247	0,97 (<1)	0,99*	346				
LnDO x LnCT	N	0,03873	1,53 (>1)	0,98*	75	0,15681	0,81 (<1)	0,90*	284				
	T	0,03701	1,63 (>1)	0,94*	45	0,15435	0,82 (<1)	0,99*	313				
	V	0,03831	1,65 (>1)	0,86*	37	0,14369	0,83 (<1)	0,99*	327				
LnAC x LnCT	N	1,15488	0,48 (<1)	0,94*	75	218,1755	-2,04 (<1)	0,70*	45	0,22578	1,06 (>1)	0,99*	239
	T	1,00210	0,44 (<1)	0,91*	74	1,11360	0,32 (<1)	0,35*	77	0,22598	1,07 (>1)	0,997*	207
	V	1,19208	0,39 (<1)	0,67*	93					0,20676	1,09 (>1)	0,99*	271

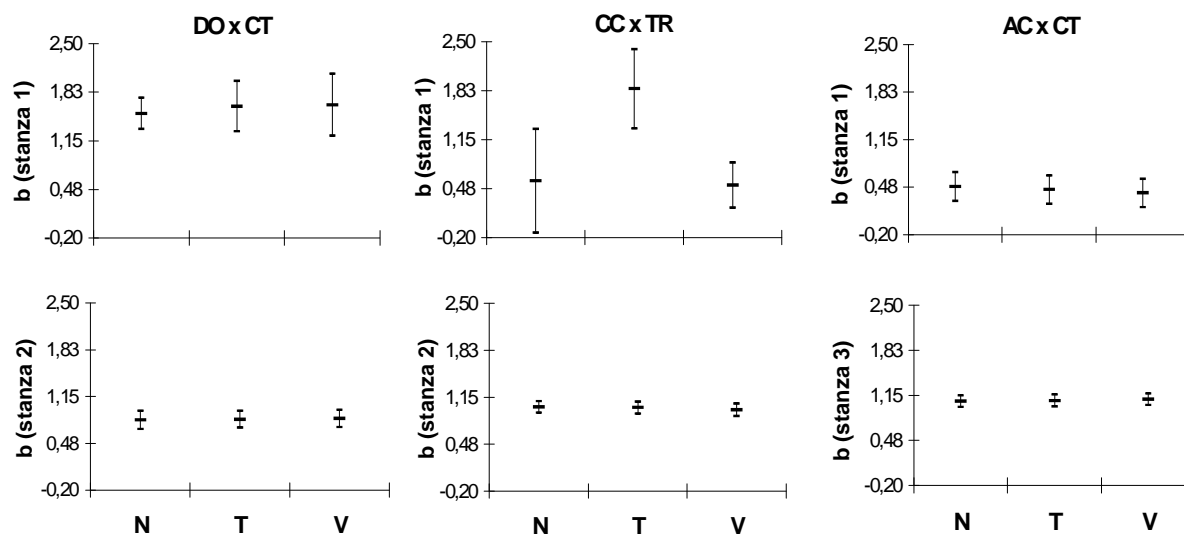
a= valor numérico do intercepto;

b= valor numérico do coeficiente angular ou alométrico (estatisticamente =, < ou > que 1);

r= valor do coeficiente de correlação (\* $P < 0,05$ );

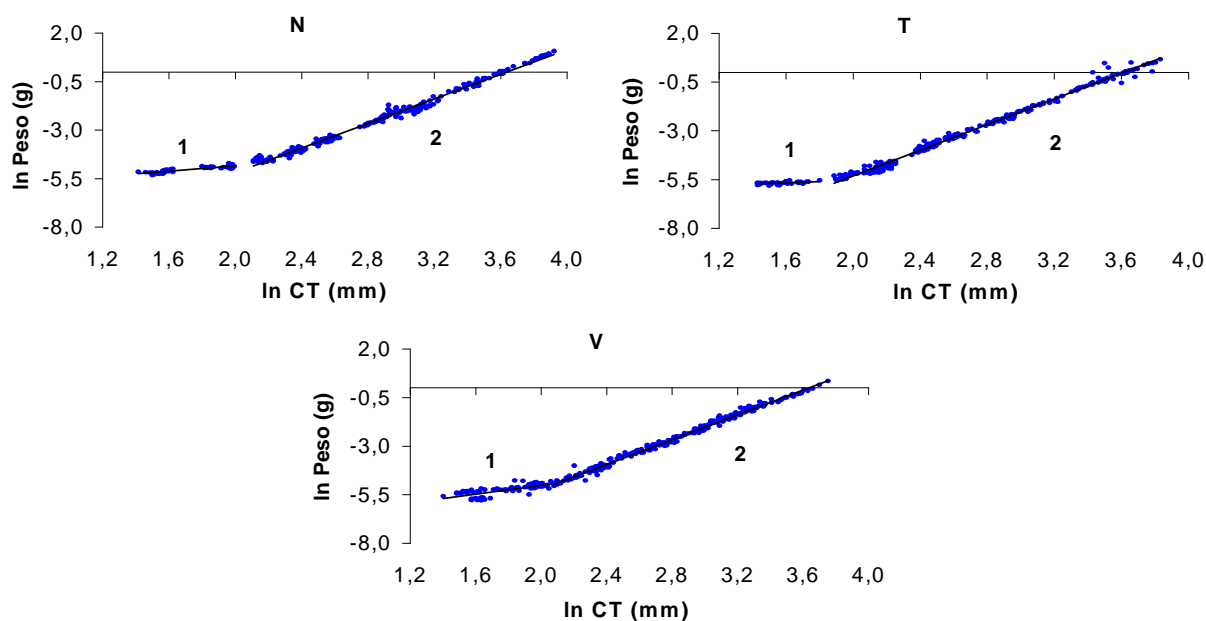
n= número de dados analisados em cada “stanza” da relação.

Na comparação simultânea dos coeficientes angulares de “stanzas” entre as linhagens (Figura 5), os conjuntos de “stanzas” 1 e 2 diferiram entre si em todas as relações. Ao comparar as “stanzas” entre linhagens, observou-se semelhanças em todas as relações, com exceção da “stanza” 1 da relação comprimento da cabeça x comprimento do tronco, onde vermelhas e nilóticas foram iguais e tailandesas diferiram das demais.



**Figura 5** – Comparação dos coeficientes angulares ( $b$ ) e respectivos intervalos de confiança para “stanças” das relações diâmetro do olho (DO) x comprimento total (CT), comprimento da cabeça (CC) x comprimento do tronco (TR) e altura do corpo (AC) x comprimento total (CT), entre as linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V).

Os diagramas de dispersão da relação entre peso e comprimento total durante o desenvolvimento larval das linhagens de tilápia (Figura 6), comprovaram a ocorrência de apenas uma alteração no padrão de crescimento entre as variáveis, detectada por volta do 5<sup>o</sup> em nilóticas e vermelhas, e do 4<sup>o</sup> dia em tailandesas.



**Figura 6** – Relação peso x comprimento total (CT) observada durante o desenvolvimento larval das linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), obtida a partir de dados logaritmizados (ln).

A relação entre peso e comprimento total foi alométrica negativa em larvas de nilóticas, tailandesas e vermelhas até atingirem 7,34 mm, 6,06 mm e 7,82 mm de comprimento total, respectivamente (“stanças” 1), com as larvas crescendo menos em peso e mais em comprimento nesta fase. A partir de 8,23 mm, 6,59 mm e 7,98 mm de comprimento (“stanças” 2), na mesma ordem de linhagens, o padrão de crescimento sofreu uma alteração e passou a ser alométrico positivo, havendo mais incremento em peso do que em comprimento (Tabela 3).

**Tabela 3** – Dados da relação ln peso/ln comprimento total observados no desenvolvimento larval das linhagens (L) de tilápia nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), para cada “stança” (ST) identificada.

L	ST 1				ST 2			
	a	B	r	n	a	b	r	n
N	0,001964	0,69 (<3)	0,90*	75	0,000010	3,16 (>3)	0,99*	284
T	0,002133	0,30 (<3)	0,51*	45	0,000007	3,29 (>3)	0,997*	313
V	0,000682	1,14 (<3)	0,78*	94	0,000007	3,19 (>3)	0,997*	270

a= valor numérico do intercepto (= fator de condição);

b= valor do coeficiente angular (estatisticamente =, > ou < de 3);

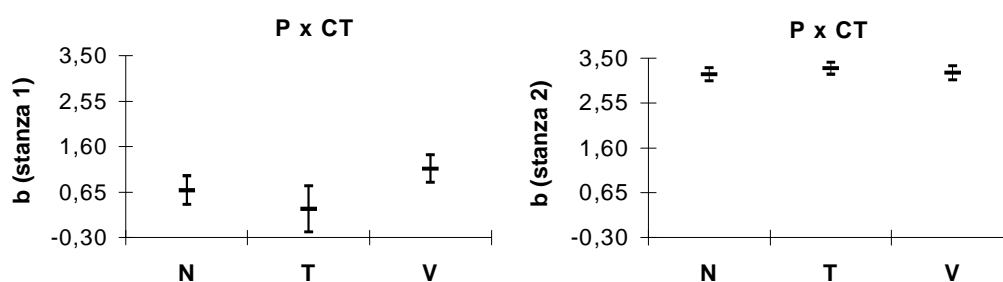
r= valor do coeficiente de correlação (\*  $P < 0,05$ );

n= número de dados analisados em cada “stança” da relação.

O fator de condição, representado na Tabela 3 pelo valor do intercepto (a), apresentou valores diferenciados durante o desenvolvimento larval das linhagens. Maiores valores de fator de condição ocorreram nos primeiros dias de vida (“stança” 1), quando nilóticas e tailandesas revelaram condições similares entre si e diferentes de vermelhas. Após ocorrer a alteração já descrita no crescimento entre peso e comprimento total, houve queda no valor do fator de condição das linhagens (“stança” 2), que passou a ser similar entre elas, com valor superior quase imperceptível em nilóticas.

Na comparação simultânea dos coeficientes angulares da relação peso x comprimento total entre as linhagens (Figura 7), observou-se que os conjuntos de “stanças” 1 e 2 diferiram entre si. As “stanças” 2 apresentaram homogeneidade entre si, revelando que o coeficiente angular, neste caso, foi semelhante entre as linhagens. Na “stança” 1 o valor do

coeficiente angular de nilóticas ficou dentro do limite máximo do intervalo de confiança de tailandesas e do limite mínimo de vermelhas, sendo semelhante às outras. Porém nesta “stanza” ocorreram diferenças significativas entre tailandesas e vermelhas, não havendo correspondência entre os coeficientes angulares das duas linhagens.

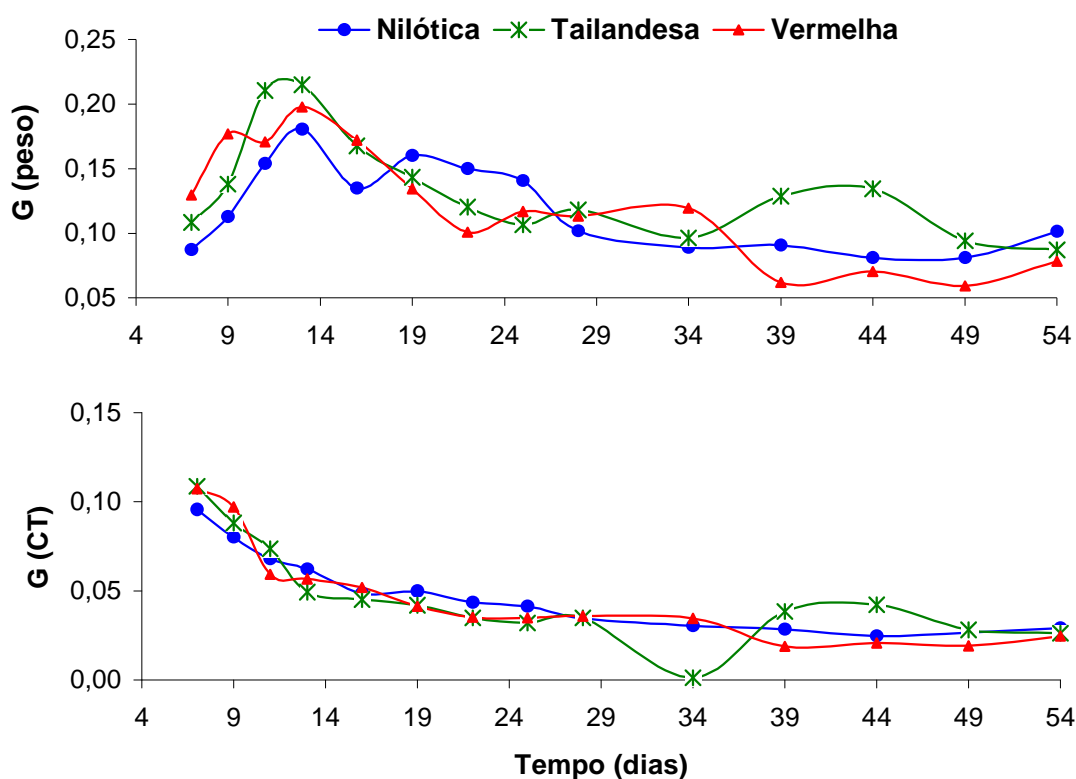


**Figura 7** – Comparação dos coeficientes angulares (b) de “stanzas” da relação peso (P) x comprimento total (CT), entre as linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V), com seus respectivos limites máximos e mínimos.

Os valores da taxa de crescimento instantâneo para peso e comprimento total, analisados ao longo do período experimental, estão representados na Figura 8. Nas três linhagens o período mais intenso de crescimento larval em peso ocorreu entre o 1º e o 28º dia, com as taxas em nilóticas, tailandesas e vermelhas, respectivamente, partindo de 0,087 g/dia, 0,108 g/dia e 0,129 g/dia, chegando a um pico de 0,181 g/dia, 0,198 g/dia e 0,215 g/dia no 13º dia, diminuindo gradativamente até o 28º dia, quando atingem 0,102 g/dia, 0,118 g/dia e 0,113 g/dia, estabilizando-se em seguida. Quanto às taxas de crescimento instantâneo em comprimento, verificou-se queda gradativa destas, em todas as linhagens, a partir da primeira semana de vida (quando as taxas foram de 0,095 mm/dia em nilóticas, 0,108 mm/dia em tailandesas e 0,107 mm/dia em vermelhas) até por volta do 28º dia de desenvolvimento (0,035 mm/dia em nilóticas e tailandesas e 0,036 mm/dia em vermelhas), estabilizando-se em seguida.

Analisado o crescimento ao longo do tempo através da prova não-paramétrica de Friedman, não foram encontradas diferenças entre as linhagens de tilápia ( $P > 0,05$ ) quanto às taxas de crescimento instantâneo em peso e comprimento. Porém, verificou-se que

quando as taxas de crescimento em peso apresentavam valores crescentes no início do desenvolvimento, as taxas de crescimento em comprimento já eram decrescentes. Mesmo assim, os períodos em que ocorreram as maiores taxas de crescimento instantâneo em peso e em comprimento foram equivalentes.



**Figura 8** - Taxa de crescimento instantâneo (G) em peso e comprimento total (CT) observada em larvas das três linhagens durante o desenvolvimento inicial.

Algumas irregularidades observadas no padrão das taxas de crescimento em uma mesma linhagem se devem à heterogeneidade de crescimento entre as repetições.

### Desempenho e efetividade da reversão

Devido ao rompimento da malha de um tanque-rede que separava duas repetições da linhagem vermelha, as duas amostras (V1 e V2), compostas por peixes que nasceram no mesmo dia, passaram a ser analisadas juntas a partir dos 30 dias de idade, quando o fato ocorreu, fazendo diminuir o número de repetições desta linhagem. A mortalidade total em uma das repetições da linhagem tailandesa (T2) também alterou o número de repetições.

Desta forma, as linhagens vermelha e tailandesa começaram com seis repetições e terminaram com cinco.

Valores do coeficiente alométrico (Tabela 4) indicaram que, com poucas exceções em juvenis (90 dias) das três linhagens de tilápia a relação entre peso e comprimento total foi alométrica positiva ( $b > 3$ ;  $P < 0,05$ ), havendo maior incremento em peso do que em comprimento nesta fase de vida. A alometria negativa não foi observada em nenhuma repetição das linhagens, porém as réplicas 4 de nilóticas, 3 de tailandesas, 5 e 6 de vermelhas apresentaram isometria, com peso e comprimento crescendo proporcionalmente nestes casos. O grau de correlação entre as variáveis analisadas foi alto e significativo em todos os casos ( $r \geq 0,96$ ;  $P < 0,05$ ).

**Tabela 4** – Dados da relação  $\ln$  peso/ $\ln$  comprimento total observados em juvenis das linhagens de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha aos 90 dias de idade.

L	Amostra	a	b	r	n
Nilótica	1	0,0000044	3,3255 (>3)	0,97*	389
	2	0,0000043	3,3153 (>3)	0,98*	368
	3	0,0000048	3,3032 (>3)	0,98*	330
	4	0,0000210	2,9656 (=3)	0,98*	286
	5	0,0000081	3,1925 (>3)	0,98*	293
	6	0,0000029	3,4094 (>3)	0,99*	57
Tailandesa**	1	0,0000085	3,1707 (>3)	0,99*	45
	3	0,0000140	3,0510 (=3)	0,98*	223
	4	0,0000100	3,1146 (>3)	0,99*	211
	5	0,0000019	3,5547 (>3)	0,96*	28
	6	0,0000042	3,3631 (>3)	0,99*	74
Vermelha	1***	0,0000100	3,1497 (>3)	0,99*	181
	3	0,0000110	3,1378 (>3)	0,99*	361
	4	0,0000110	3,1206 (>3)	0,99*	242
	5	0,0000170	3,0066 (=3)	0,99*	132
	6	0,0000140	3,0521 (=3)	0,98*	51

a= valor numérico do intercepto (= fator de condição);

b= valor do coeficiente angular (estatisticamente =, > ou < que 3);

r= valor do coeficiente de correlação (\* $P < 0,05$ );

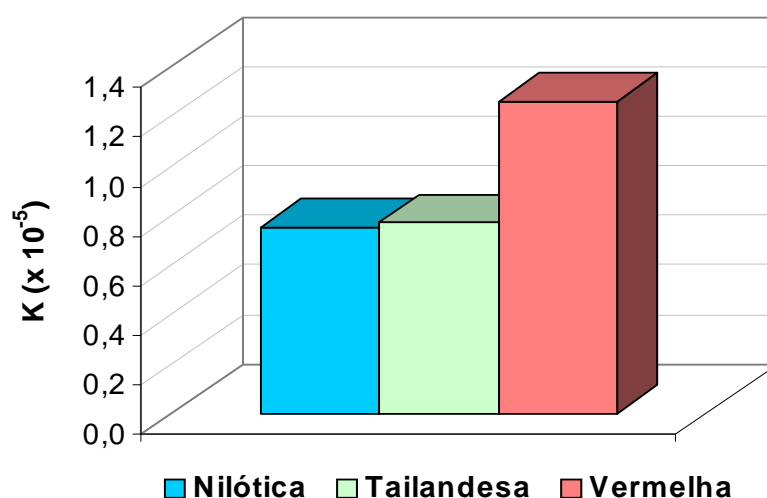
n= número de dados analisados.

\*\* Mortalidade total em T2.

\*\*\*Por falhas técnicas, amostras V1 e V2, de mesma idade, estão juntas.

O fator de condição alométrico, representado na Tabela 4 pelo valor do intercepto (a), teve valores diferenciados entre réplicas de mesma linhagem. Maiores valores ocorreram nas réplicas 4 de nilóticas, 3 de tailandesas, 5 e 6 de vermelhas, os mesmos juvenis que apresentaram crescimento isométrico entre peso e comprimento. Nas demais réplicas das linhagens, onde peso e comprimento foram alométricos positivos, os valores do fator de condição diminuíram à medida em que os valores numéricos dos coeficientes angulares das amostras se distanciaram positivamente de três.

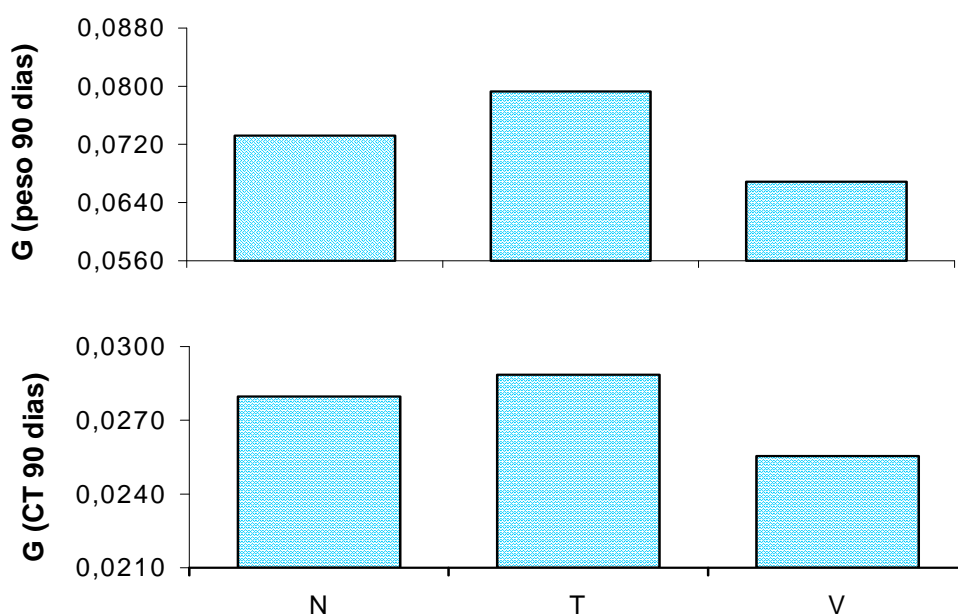
A Figura 9 traz os valores médios do fator de condição alométrico obtido em juvenis de cada linhagem. A linhagem vermelha apresentou o maior valor, com média de  $1,26 \times 10^{-5} \pm 0,29 \times 10^{-5}$ . Os valores do fator de condição em nilóticas e tailandesas foram similares, com médias de  $0,75 \times 10^{-5} \pm 0,68 \times 10^{-5}$  e de  $0,77 \times 10^{-5} \pm 0,48 \times 10^{-5}$ , respectivamente.



**Figura 9** – Fator de condição médio observado em juvenis das três linhagens de tilápia aos 90 dias de idade.

As médias finais da taxa de crescimento instantâneo em peso e comprimento total de todas as linhagens, aos 90 dias de vida, estão representadas na Figura 10. A média da taxa de crescimento instantâneo em peso, ao final do experimento, foi de 0,07322 g/dia, 0,07928 g/dia e 0,06691 g/dia, em nilóticas, tailandesas e vermelhas. A média da taxa de crescimento instantâneo em comprimento total, ao final do experimento, foi de 0,02797

mm/dia, 0,02885 mm/dia e 0,02555 mm/dia, para a mesma ordem de linhagens. Apesar da linhagem tailandesa ter apresentado os maiores valores de taxas de crescimento instantâneo em peso e comprimento, os valores das taxas entre as linhagens foram muito próximos, com as principais diferenças entre taxas sendo observadas entre tailandesas e vermelhas, que tiveram, respectivamente, as maiores e menores taxas de crescimento, tanto em peso quanto em comprimento total.



**Figura 10** – Média de taxa de crescimento instantâneo (G) em peso e comprimento total (CT) observada em juvenis das linhagens de tilápia nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V) aos 90 dias de idade.

A Tabela 5 traz as médias de comprimento total, peso e proporção de sexos observada em cada amostra de tilápia aos 90 dias de idade, bem como os respectivos valores médios e as variâncias. As variâncias foram homogêneas para comprimento total ( $\chi^2 = -13,633$ ;  $P > 0,05$ ), peso ( $\chi^2 = -4,44$ ;  $P > 0,05$ ) e proporção de intersexos ( $\chi^2 = 2,57$ ;  $P > 0,05$ ), e heterogêneas para proporção de machos ( $\chi^2 = 8,13$ ;  $P < 0,05$ ) e de fêmeas ( $\chi^2 = 26,76$ ;  $P < 0,05$ ).

A análise de variância mostrou haver diferença na média de comprimento de pelo menos duas linhagens ( $F = 4,41$ ;  $P < 0,05$ ) e diferenças não significativas entre as linhagens

em relação às médias de peso ( $F=2,31$ ;  $P>0,05$ ) e proporção de intersexos ( $F=1,86$ ;  $P>0,05$ ). Foram observadas diferenças entre as médias das proporções de machos e de fêmeas, após avaliadas pela prova não-paramétrica de Kruskal-Wallis ( $H= 6,45$ ;  $P<0,05$  para machos e  $H= 7,35$ ;  $P<0,05$  para fêmeas). O teste de Tukey mostrou que a média de comprimento de tailandesas foi igual a nilóticas e vermelhas, porém as médias de nilóticas e vermelhas diferiram entre si.

**Tabela 5**– Dados de comprimento total (CT), peso e sexo, seguidos de médias (M) e variâncias ( $S^2$ ) obtidas em juvenis das linhagens (L) de tilápia nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V) aos 90 dias de idade, revertidos com 17- $\alpha$ -metiltestosterona.

		Machos			Fêmeas	Intersexos
L	A	CT (mm)	Peso (g)	(%)	(%)	(%)
N	1	75,74	8,05	99,49	0,00	0,51
	2	73,03	6,67	99,19	0,00	0,81
	3	80,80	9,66	98,48	0,30	1,21
	4	68,44	6,16	96,85	0,00	3,15
	5	70,47	6,56	99,32	0,34	0,34
	6	86,39	11,93	98,25	0,00	1,75
T	1	93,95	15,99	95,56	0,00	4,44
	3	57,49	3,39	96,88	0,89	2,23
	4	71,44	6,50	97,63	0,95	1,42
	5	76,65	10,38	96,55	0,00	3,45
	6	64,63	5,98	90,54	4,05	5,41
V	1	78,89	10,42	97,79	0,55	1,66
	3	50,17	2,46	75,69	17,96	6,35
	4	49,12	2,31	98,35	1,24	0,41
	5	45,89	1,81	98,48	0,76	0,76
	6	57,56	3,38	92,16	1,96	5,88
M* ( $S^2$ )	N	75,81 (45,48)a	8,17 (5,05)	98,73 (0,97)	0,12 (0,03)	1,16 (1,08)
	T	72,83 (191,28)ab	8,45 (24,02)	96,23 (8,03)	1,20 (2,80)	2,57 (2,60)
	V	56,33 (177,35)b	4,08 (12,90)	89,46 (95,17)	7,33 (56,93)	3,20 (8,27)

\*Médias em mesma coluna seguidas com letras diferentes, diferem significativamente entre si ( $P< 0,05$ ) nos testes de Tukey.

A Tabela 6 traz valores da taxa de sobrevivência de indivíduos de cada linhagem ao longo do período experimental. A sobrevivência final da linhagem nilótica foi 40% e 24% superior às linhagens tailandesa e vermelha, respectivamente.

Através das taxas de sobrevivência (Tabela 6) observa-se que 3% das larvas de nilóticas e vermelhas, e 20% de tailandesas, morreram nas duas primeiras semanas de vida. Até o final do período de reversão sexual (30 dias), 24%, 70% e 35% das larvas das linhagens nilóticas, tailandesas, e vermelhas, respectivamente, foram excluídas.

As diferenças ocorridas quanto a densidade das linhagens (Tabela 6) se devem ao fato de cada uma das repetições das linhagens ser composta pelo número total de larvas obtidas em uma desova, sendo excluídas apenas larvas amostradas (360 larvas de cada berçário foram subtraídas do  $N_0$ ) e eliminadas por mortalidade natural.

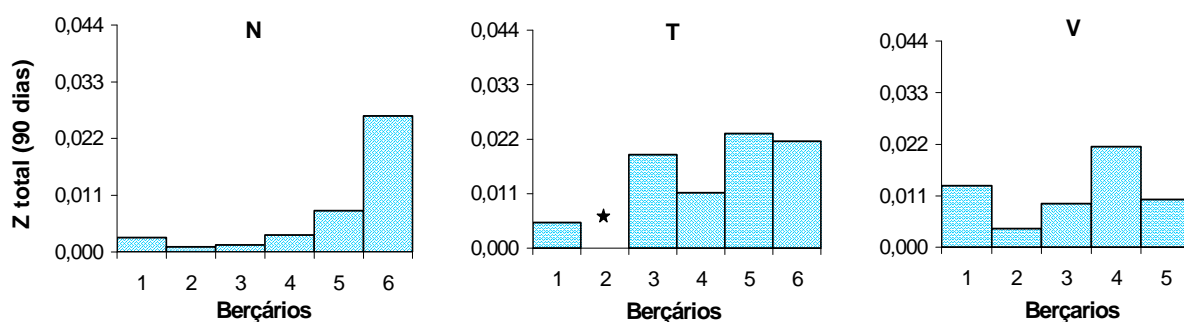
**Tabela 6** – Número de larvas (n) aos 8 dias ( $N_0$ ) de idade, densidade (peixe/m<sup>3</sup>) e taxa de sobrevivência (S) aos 15, 30, 60 e 90 dias de idade nas linhagens nilótica (N), tailandesa (T) e vermelha (V).

Idade (dias)	N ( $N_0 = 2695$ )			T ( $N_0 = 2416$ )			V ( $N_0 = 2440$ )		
	n	peixe/m <sup>3</sup>	S	n	peixe/m <sup>3</sup>	S	N	Peixe/m <sup>3</sup>	S
15	2624	437,33	0,97	1936	322,67	0,80	2358	393,00	0,97
30	2044	340,67	0,76	720	144,00	0,30	1597	266,17	0,65
60	1780	296,67	0,66	632	126,40	0,26	1005	201,00	0,41
90	1726	287,67	0,64	582	116,40	0,24	968	193,60	0,40

As densidades mínimas e máximas observadas entre repetições de uma mesma linhagem, durante o período em que as larvas foram mantidas em laboratório (até completarem 15 dias), foram de 3,57 a 5,21 larvas/litro em nilóticas, de 1,10 a 9,32 larvas/litro em tailandesas e de 1,48 a 6,81 larvas/litro em vermelhas. Quando as larvas foram estocadas em tanques-rede, as densidades mínimas e máximas entre repetições da linhagem nilótica foram de 390 a 581 larvas/m<sup>3</sup>, na linhagem tailandesa foram de 82 a 699 larvas/m<sup>3</sup>, e na linhagem vermelha de 136 a 774 larvas/m<sup>3</sup>. Devido às altas taxas de mortalidade observadas ao longo do período experimental, ao final do período de reversão sexual (30 dias), as densidades mínimas e máximas presentes na linhagem nilótica foram de 151 a 451 larvas/m<sup>3</sup>, na linhagem tailandesa de 47 a 312 larvas/m<sup>3</sup> e na linhagem

vermelha de 72 a 654 larvas/m<sup>3</sup>, com médias de  $22,81 \pm 1,27$  mm,  $22,69 \pm 2,94$  mm e  $22,57 \pm 1,89$  mm de comprimento total, em nilóticas, tailandesas e vermelhas, respectivamente.

A taxa instantânea de mortalidade total (Z) por linhagem aos 90 dias de idade (Figura 11) teve média de 0,0071/dia para nilóticas, de 0,0160/dia para tailandesas e de 0,0116/dia para vermelhas.



**Figura 11** – Taxa de mortalidade total (Z) de juvenis das linhagens de tilápia nilóticas (N), tailandesas (T) e vermelhas (V) ao final do experimento (90 dias). \* Mortalidade total.

## DISCUSSÃO

Em análise da fecundidade por lote ( $F_L$ ) entre as linhagens, foi observada uma relação inversa entre o tamanho corporal das fêmeas de uma linhagem e o diâmetro de ovos produzidos. Observando a fecundidade relativa ( $F_R$ ), apenas a linhagem vermelha produziu menos ovos por grama de fêmea quando comparada com tailandesa e nilótica, que tiveram médias de tamanho (em peso) das fêmeas diferentes (tailandesa > nilótica), porém, estatisticamente, tiveram a mesma  $F_R$ , com o maior tamanho das fêmeas contribuindo apenas para aumentar o número de ovos produzido por desova, como foi observado em *Tilapia melanotheron* (Eyson, 1979), em *Sarotherodon niloticus* e *S. aureus* (Payne & Collinson, 1983) e entre populações de trutas (Jonsson & Jonsson, 1999).

Payne & Collinson (1983) afirmam que na maioria dos peixes há uma relação cúbica entre fecundidade e tamanho de fêmeas, com o peso do corpo determinando o volume de ovos produzidos, o que, segundo os autores, não ocorre para tilápias que incubam a prole na boca, nas quais fecundidade e tamanho de fêmeas tem relação quadrática, pois a quantidade de ovos produzidos é determinada pelo tamanho da cavidade oral, representada por dimensões lineares.

Segundo Duarte & Alcaraz (1989), devido a tática reprodutiva, peixes com ovos demersais, como tilápias, produzem menos, porém maiores ovos, pois estes dependem mais da sobrevivência individual, enquanto espécies com ovos pelágicos precisam produzir mais ovos, portanto menores, para aumentar as chances de indivíduos da prole, que fica a mercê das condições inóspitas do ambiente, chegarem à maturidade. Blaxter (1969) também afirma haver correlação entre o tamanho de ovos produzidos e as condições de incubação a que estes serão submetidos.

Einum & Fleming (2002) sugerem que variações no tamanho de ovos entre populações são mais pronunciadas em espécies com ovos e larvas demersais, por refletirem o processo adaptativo de cada população quanto a influência maternal sobre a

prole. Sargent et al. (1987) observaram correlação positiva entre o tamanho do ovo e a qualidade do cuidado parental em várias famílias, incluindo Cichlidae.

Duarte & Alcaraz (1989) consideram que a variabilidade reprodutiva quanto ao tamanho e número de ovos é determinada pelo grau de controle parental sobre as condições que serão vivenciadas pelas larvas durante o crescimento. O mesmo foi sugerido por Eysen (1979), afirmando que em tilápias, assim como em outros peixes de cuidado parental, a produção de ovos tende a ser baixa, principalmente em “guardadores de boca”, como no gênero *Oreochromis*, que precisam alojar as larvas em um pequeno espaço.

Coleman & Galvani (1998) afirmam que produzir grandes ovos custa mais energeticamente para a fêmea do que fazer pequenos ovos e, conseqüentemente, a produção de grandes ovos resulta na redução da fecundidade. Mesmo assim, o maior investimento por parte da fêmea para produzir grandes ovos é vantajoso por ter efeito benéfico sobre a sobrevivência da prole (Einum & Fleming, 2002).

Vários autores concordam que o tamanho de ovos em peixes pode ser influenciado pelas condições físicas e fisiológicas dos reprodutores, devido a idade, qualidade e quantidade de alimento ingerido, critérios de seleção e condições ambientais (Zhukinskiy & Gosh, 1988, Kjorsvik et al., 1990; Brooks et al., 1997; Bonislawska et al., 2000). Em relação as linhagens de tilápia deste estudo, todas possuíam em média a mesma idade (1 ano), foram alimentadas com o mesmo alimento e mesma freqüência e estavam submetidas às mesmas condições ambientais, indicando que as diferenças quanto ao tamanho dos ovos foram mesmo de conotação linhagem específica.

A ordem observada no diâmetro de ovos por linhagem (nilótica>vermelha>tailandesa) foi a mesma observada para o comprimento total de larvas no dia da eclosão, tamanho do saco vitelino, tempo de absorção do saco vitelino e taxa de sobrevivência, indicando que larvas que nascem maiores e com mais reservas vitelinas estão mais preparadas energeticamente para atravessar o período crítico de metamorfose e estão menos

susceptíveis às condições inóspitas do ambiente (Coleman & Galvani 1998; Morley et al., 1999; Bonislawska et al., 2000).

Em *O. mossambicus*, Rana (1985) observou correlação positiva entre tamanho dos ovos, de larvas, de saco vitelino, crescimento e sobrevivência. Larvas não alimentadas, nascidas de ovos classificados como pequenos, médios e grandes começaram a morrer, por exaustão de reservas endógenas, aos 8, 14 e 16 dias após a eclosão, respectivamente, e tiveram peso e comprimento proporcionais ao tamanho dos ovos. A taxa de crescimento instantâneo foi mais alta em larvas oriundas de pequenos ovos até 3 dias após a eclosão, caindo rapidamente entre 3 a 9 dias em ovos pequenos e médios, a partir de quando as larvas começaram a perder peso. Já em grandes ovos, o crescimento negativo só foi observado em larvas a partir de 12 dias de idade.

Gisbert et al. (2000), que verificaram a influência do tamanho de ovos no crescimento e sobrevivência dos estágios iniciais de esturjão, também verificaram correlação positiva entre diâmetro de ovos, tamanho de larvas (comprimento e peso) e tamanho do saco vitelino; porém, não observaram diferenças entre as taxas de sobrevivência e crescimento de larvas provenientes de ovos grandes e pequenos, o que atribuíram às condições favoráveis de cultivo para um bom desenvolvimento de pequenas ou grandes larvas, quanto a qualidade do ambiente e do alimento.

Morley et al. (1999), que manipularam a quantidade de vitelo presente em ovos de arenque, observaram que quanto menor for o diâmetro do ovo, mais significativa é a ação da quantidade do vitelo presente sobre o tamanho da larva eclodida e do saco vitelino.

Os ovos das linhagens nilótica, tailandesa e vermelha, com diâmetros médios de 2,54 mm (2,85 mm de altura e 2,23 mm de largura), 2,07 mm (2,36 x 1,78 mm) e 2,31 mm (2,69 x 1,93 mm), respectivamente, tiveram tamanho aproximado ao que foi observado para *O. niloticus* por Lingling & Qianru (1981), com altura de 2,06 a 2,40 mm e largura de 1,35 a 1,80 mm; Bern & Avtalion (1990), com média de 2,50 mm (2,00 x 3,00 mm) e também ao observado para a outra espécie que incuba a prole na boca, *Tilapia melanotheron*, que teve

ovos com altura de 2,10 a 3,00 mm e largura de 1,90 a 2,60 mm (Eyson, 1979). Porém, os ovos de tilápia foram um pouco maiores quando comparados com ciclídeos tropicais que incubam ovos adesivos no substrato, como *Cichlasoma managuense*, com diâmetro médio de ovos de 1,54 x 1,31 mm (Rodríguez et al., 1989); *Cichlasoma dovii*, com diâmetro de 2,10 x 1,60 mm (Peña et al., 1988); *Cichlasoma dimerus*, com diâmetro de 1,65 x 1,25 mm (Meijide & Guerrero, 2000).

Eyson (1979) sugere que entre tilápias, ovos de “guardadoras de boca” contêm densidade mais alta de vitelo em relação aos ovos que ficam aderidos ao substrato, pois após a eclosão, a atividade natatória de larvas de guardadoras é esporádica, enquanto larvas de não guardadoras são mais independentes e precisam de mais habilidade natatória, portando de menor saco vitelino.

Apesar das pequenas diferenças observadas nos diâmetros de ovos entre ciclídeos, características como forma ovóide (eixo horizontal mais longo que eixo vertical) e o restrito espaço perivitelino do ovo parecem ser próprias da família Cichlidae, pois foram comuns entre ovos das três linhagens de tilápia deste estudo e de *O. niloticus* em outros trabalhos (Lingling & Qianru, 1981; Payne & Collinson, 1983; Galman & Avtalion, 1989; Bern & Avtalion, 1990; Rana, 1990a; Morrison et al., 2001; Nakatani et al., 2001), e também em outras espécies de ciclídeos, como *Tilapia melanotheron* (Eyson, 1979); *O. aureus* (Payne & Collinson, 1983); *O. mossambicus* (Rana, 1990); *Cichlasoma dovii* (Peña et al., 1988); *Cichlasoma managuense* (Rodríguez et al., 1989); *Cichlasoma dimerus* (Meijidi & Guerrero, 2000).

Ovos de tilápia e de outros ciclídeos parecem ser de tamanhos intermediários quando comparados com os de outros peixes, pois Chambers & Leggett (1996), que estudaram a influência maternal na variação do tamanho de ovos em 309 espécies de peixes marinhos, encontraram ovos tão pequenos quanto 0,30 mm e tão grandes quanto 18,00 mm de diâmetro. Segundo Wootton (1994), o raio mínimo de um ovo, compatível para o grau de organização de um vertebrado é de 0,10 mm.

Alguns autores sugerem que em ovos muito grandes a sobrevivência e o crescimento tendem a cair nos estágios iniciais de desenvolvimento (Zhukinskiy & Gosh, 1988). Isto está relacionado a razão superfície/volume e o transporte de oxigênio através de membranas. Ovos de dimensões menores tem um transporte de oxigênio mais eficiente em seu interior e mais chances de suprir as necessidades respiratórias do embrião (Bonislawska et al., 2001). O período mais longo para a eclosão em grandes ovos também representa risco, pois faz com que estes fiquem mais tempo imóveis e incapazes de fugir de predadores e condições inóspitas do ambiente (Blaxter, 1969; Wootton, 1994; Brooks et al., 1997), além de grandes ovos ou larvas serem mais facilmente visualizados por predadores (Brooks et al., 1997).

Coleman & Galvani (1998), que observaram relação positiva entre tamanho de ovo, comprimento de larva eclodida e o tamanho de saco vitelino em 26 espécies de ciclídeos neotropicais, sugerem também que pequenas diferenças no tamanho de ovos tem grande significância biológica na história de vida das larvas, pois as maiores larvas serão mais hábeis para escapar de predadores e explorar ambientes, além destas diferenças iniciais poderem influenciar em variações subseqüentes na hierarquia entre os peixes.

Devido à correspondência entre o tamanho dos ovos, de larvas e de saco vitelino, neste trabalho, ficou claro que diferenças entre as linhagens de tilápia quanto ao diâmetro do ovos não ocorreram devido à quantidade de água em seu interior, como Coleman & Galvani (1998) propõem ser possível, mais sim pela quantidade de reserva vitelina presente.

O comprimento total das larvas das linhagens nilótica, tailandesa e vermelha neste estudo ( médias de 4,93 mm, 4,45 mm e 4,68 mm, respectivamente), no dia da eclosão, foi aproximado ao observado por Morrison et al. (2001) em *O. niloticus* (média de 4,80 mm de CT); menor que o observado por Nakatani et al. (2001) na mesma espécie (média de 5,42 mm de comprimento padrão, tendo provavelmente um comprimento total próximo a 6,00 mm); maior que larvas de *Tilapia melanotheron* (média de 4,10 mm de comprimento total) descritas por Eyson (1979).

A característica de retina pigmentada e presença de boca rudimentar ao nascer, e seqüência de formação da pigmentação e das nadadeiras de larvas de tilápia das três linhagens foi a mesma observada em *O. niloticus* por Lingling & Qianru (1981); Galman & Avtalion (1989); Morrison et al. (2001) e Nakatani et al. (2001), havendo pequena variação entre os estudos quanto ao tempo de desenvolvimento de estruturas e de absorção de nadadeira embrionária e do saco vitelino, o que pode ser explicado por serem trabalhos distintos, realizados em diferentes locais, sob diferentes condições experimentais. As mesmas características foram observadas em outras espécies de ciclídeos, como em *Cichlasoma dovii* (Peña et al., 1988); *Cichlasoma managuense* (Rodríguez et al., 1989); *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero, 2000).

De acordo com Blaxter (1969) e Meijide & Guerrero (2000), o tempo de alterações ontogenéticas em larvas de peixes pode ser influenciado por diferentes condições de altitude, fotoperíodo, disponibilidade de alimento, temperatura, densidade, entre outros. Morrison et al. (2001) concordam que além destes fatores, estas variações no tempo de desenvolvimento de estruturas em larvas de peixes podem ser atribuídas ao fato de diferentes linhagens serem utilizadas em cada caso, fato já observado neste estudo.

As diferenças observadas quanto ao tempo de formação das nadadeiras entre as três linhagens deste estudo e ao tempo de definição do padrão de pigmentação das linhagens nilótica e tailandesa (vermelha não tem melanóforos superficiais como as demais linhagens) possivelmente foram de conotação linhagem específica, assim como o próprio diâmetro de ovos, pois todas estavam em mesmas condições experimentais. Apesar da diferenciação das nadadeiras ter ocorrido precocemente nas linhagens nilótica e vermelha em relação a tailandesa, em todas as larvas isto ocorreu antes da absorção total do vitelo, ou seja, não faltou energia endógena para esta fase da metamorfose em nenhuma das linhagens.

O momento em que a vesícula gasosa começou a inflar (4 dias) correspondeu com o início da alimentação exógena e considerável redução no tamanho do saco vitelino. Neste

momento também iniciou-se a formação de raios nas nadadeiras dorsal, anal e peitoral (na caudal se formam antes e na pélvica depois). Aos 6 dias, a bexiga natatória estava totalmente inflada e visível por transparência e todas as nadadeiras, com exceção das pélvicas, já possuíam raios em formação, indicando que neste momento as habilidades natatórias das larvas das três linhagens entraram em ação.

Morrison et al. (2001) observaram a boca de larvas recém eclodidas coberta por uma membrana orofaríngea, que desapareceu entre o primeiro e segundo dia após a eclosão. Os autores também observaram o início da alimentação e do enchimento da bexiga natatória ocorrendo simultaneamente, no mesmo dia ao observado em linhagens de tilápia deste estudo, e verificaram histologicamente, um ducto pneumático conectando a vesícula gasosa ao trato digestório, com o enchimento desta vesícula iniciando-se devido ao ar engolfado junto ao alimento.

Galman & Avtalion (1989) visualizaram a bexiga natatória inflada por volta do 7º dia (164 horas após a eclosão) em *O. niloticus*; porém apesar de observarem a abertura da boca 26 horas após a eclosão, relatam o início da alimentação exógena apenas por volta de 8 dias (184 horas) após a eclosão, momento em que observaram a completa absorção do vitelo. Os autores não relatam o momento em que iniciaram o fornecimento de alimento. Possivelmente as larvas não se alimentaram antes por não haver alimento disponível.

Nas correlações observadas no desenvolvimento larval das três linhagens de tilápia, houve correspondência entre o momento de alteração da relação peso x comprimento total e da alteração na relação altura do corpo x comprimento total. Desde a eclosão até próximo aos 4 dias em tailandesas e 5 dias em nilóticas e vermelhas, as larvas das três linhagens aumentaram mais em comprimento do que em peso (coeficiente angular menor que 3), apresentando maiores valores de fator de condição neste período. Ao mesmo tempo, a altura do corpo crescia negativamente em relação ao comprimento da larva. Durante este período, o vitelo estava sendo gradualmente absorvido e, mesmo que a larva estivesse aumentando em peso e altura do corpo, a redução do peso e altura do saco vitelino

provavelmente determinou o crescimento alométrico negativo em peso (até o final deste período a obtenção de alimento era endógena) e altura do corpo neste período inicial.

Na relação altura do corpo x comprimento total, logo após o período descrito anteriormente, houve uma queda brusca na altura do corpo de larvas das três linhagens, que foi visualizada como um momento de descontinuidade desta relação em nilóticas e tailandesas (stanza 2), e em vermelhas, apesar de também ter ocorrido a queda, a altura do corpo passou imediatamente a crescer mais que comprimento total.

Observando o comprimento total das larvas quando o crescimento extremamente negativo da altura do corpo foi identificado, nota-se que este momento correspondeu ao último dia de presença externa de saco vitelino e a um dia posterior a este, indicando que, mesmo quando o vitelo não era mais visualizado externamente, ainda fazia parte e influenciava na altura do corpo. Blaxter (1969) afirma que o desaparecimento externo do saco vitelino não indica a total utilização do vitelo, que ainda pode estar estocado em espaços corporais da larva, como os subdermais, por exemplo.

Quando a queda brusca em altura do corpo iniciou-se, simultaneamente houve mudança na relação peso x comprimento, com as larvas passando a aumentarem mais em peso e menos em comprimento. Neste momento o crescimento foi favorecido, provavelmente, por que as larvas já tinham superado o período de transição da alimentação endógena para exógena, que é um dos momentos mais críticos durante a ontogenia em peixes e geralmente marcado por aumento nas taxas de mortalidade (Gisbert et al., 2000).

Logo após a absorção do vitelo, a taxa de crescimento instantâneo em peso aumentou rapidamente em larvas das três linhagens de tilápia deste estudo, até por volta dos 12 dias de idade, com queda gradativa até próximo aos 30 dias, mantendo-se constante posteriormente.

Rana (1990b) também observou altas taxas de crescimento (em peso) em larvas de *O. niloticus* no início do desenvolvimento, verificando que o crescimento aumentou muito até o 6º dia de vida em temperatura de 28 e 30°C, e com menos intensidade, porém até o 9º dia,

em temperatura de 20 e 24°C, quando começou a decrescer devido a exaustão de reservas vitelinas, já que o experimento foi realizado com larvas não alimentadas.

Ekau & Blay (2000) observaram, em *Sarotherodon melanotheron*, um crescimento acentuado nos 3 primeiros dias de desenvolvimento, seguido por uma fase de decréscimo que levou de 7 a 8 dias, voltando a aumentar entre 9 e 10 dias, após o desaparecimento do vitelo, atingindo o que os autores chamam de fase linear. O vitelo foi absorvido entre 5 e 7 dias após a eclosão (temperatura de 27-28°C) e a fase de queda no crescimento foi identificada como de transição alimentar de endógena para exógena.

Em larvas não alimentadas de *O. mossambicus*, Rana (1985) concluiu que o rápido declínio na taxa de crescimento ( em peso) no período de 6 a 9 dias após a eclosão ocorreu porque, na falta de alimentação exógena, o vitelo foi utilizado preferivelmente para a manutenção do corpo do que para promover o crescimento, verificando que larvas derivadas de grandes ovos foram privilegiadas no período de transição para a alimentação exógena, pois suas grandes reservas de vitelo retardaram a irreversível inanição por 4 dias quando comparadas com larvas derivadas de pequenos ovos.

Nas larvas de tilápia deste estudo, o período de incremento nas taxas de crescimento instantâneo em peso estendeu-se até 13 dias de idade, quando atingiram um pico de taxa máxima. As taxas foram crescentes mesmo durante a transição de alimentação endógena para exógena, o que pode ser atribuído ao fato das larvas já estarem habituadas ao alimento exógeno quando o endógeno se esgotou (aos 7, 8 e 9 dias, respectivamente para tailandesas, vermelhas e nilóticas), e a queda nas taxas de crescimento em peso após os primeiros 13 dias de vida deve ter ocorrido devido a alterações fisiológicas e/ou morfológicas, pois poucos dias mais tarde grande parte dos indivíduos já estavam chegando ao fim do período larval, com formação completa de todos os tecidos corporais.

Brett (1979) afirma que alterações no valor da taxa de crescimento em peso, no início do desenvolvimento dos peixes, podem ocorrer devido a mudanças na composição do corpo quanto a razão entre os níveis de proteína, lipídios e água, e que é observado um

rápido aumento na taxa de crescimento quando a temperatura é favorável, o que freqüentemente é alterado quando a temperatura se altera bruscamente.

O padrão de crescimento observado nas relações comprimento da cabeça x comprimento do tronco e diâmetro do olho x comprimento total não demonstrou diferenças morfométricas representativas entre as linhagens. O maior incremento que ocorreu no comprimento da cabeça na linhagem da tailandesa nos primeiros dias de desenvolvimento (stanza1), pode ter sido de conotação linhagem específica, mas as diferenças no crescimento desta medida linear entre as linhagens não perdurarão até o final do desenvolvimento larval.

Rodríguez et al. (1989) observaram que em *Cichlasoma managuense*, variáveis morfométricas como altura da cabeça, altura do corpo e comprimento total duplicaram nos primeiros 25 dias de vida, onde o incremento na dimensões lineares da cabeça foi mais significativo nos primeiros 10 dias de desenvolvimento, fato que os autores atribuíram ao desenvolvimento necessário de mecanismos sensoriais e rápida formação de brânquias no início do desenvolvimento. Os pesquisadores atribuíram o rápido incremento em medidas relacionadas ao tronco do peixe após o desenvolvimento das habilidades natatórias ao desenvolvimento muscular requerido para uma natação eficiente, fato que também pode ter influenciado na alteração brusca do padrão de crescimento da relação altura do corpo x comprimento total, que passou de alometria extremamente negativa para positiva após a completa absorção do vitelo.

O período de metamorfose nas três linhagens de tilápia deste estudo terminou por volta dos 19 dias de idade, quando todas as características morfológicas externas dos indivíduos eram idênticas às de um adulto da mesma espécie, o que caracteriza o período juvenil (Nakatani et al., 2001). Lingling & Qianru (1981) observaram período idêntico para *O. niloticus*, observando o fim do período larval entre 19 e 21 dias. Nakatani et al. (2001) observaram o início do estágio juvenil na mesma espécie por volta de 13,28 mm de comprimento padrão, que corresponde à indivíduos de aproximadamente 19 dias neste

trabalho (em torno de 17,00 mm de comprimento total). Em ciclídeos do gênero *Cichlasoma*, o período de metamorfose terminou um pouco mais tarde, com os peixes adquirindo características morfológicas de adultos por volta de 25 dias para *C. dovii* (Peña et al., 1988) e *C. managuense* (Rodríguez et al., 1989) e entre 40 e 42 dias em *C. dimerus* (Meijide & Guererro, 2000). O período mais curto de metamorfose em tilápias do gênero *Oreochromis* pode estar relacionado à maior disponibilidade de vitelo para a formação de tecidos.

Os valores do fator de condição (K) e do coeficiente alométrico observados após o período da reversão sexual nas linhagens nilótica, tailandesa e vermelha (K= 0,000010 e b= 3,16 em N; K= 0,000007 e b= 3,29 em T e K= 0,000007 e b= 3,19 em V) foram diferentes dos observados no mesmo momento para *O. niloticus* por Leonhardt (1997), onde o valor de K foi de 0,0152 e valor do coeficiente alométrico foi de 2,98, indicando que nas linhagens nilótica, tailandesa e vermelha deste estudo houve mais incremento em peso do que em comprimento durante a reversão sexual, ao contrário do padrão de crescimento de *O. niloticus* relatado pelo pesquisador.

Quanto ao desempenho das três linhagens após a metamorfose e reversão sexual, verificou-se que ocorreram diferenças quanto as taxas de crescimento instantâneo, em peso e comprimento total, aos 90 dias de idade, que foram decrescentes no sentido tailandesas, nilóticas e vermelhas. A média da taxa de crescimento obtida nos juvenis da linhagem tailandesa foi pouco superior à linhagem nilótica, porém a taxa de sobrevivência de nilóticas foi superior e compensatória em relação às outras linhagens.

Em juvenis da linhagem vermelha, em que foi observada a menor taxa de crescimento em peso, inversamente foi verificado o maior valor de fator de condição (K). Como os valores de K aumentaram quanto mais negativo foi o incremento em peso dos peixes, neste estudo, menores valores de K não significaram pior estado de bem estar dos indivíduos, apenas refletiram o tipo de relação existente entre o crescimento em peso e comprimento dos juvenis.

Braga (1997) verificou que com o aumento do valor numérico do coeficiente de regressão  $b$  (que tem valor crescente quanto maior for o peso na relação peso =  $Y$  e comprimento =  $X$ , por representar a inclinação da reta da equação linear da relação), ocorre queda no valor da constante de regressão  $a$  (que além de representar o intercepto de  $X$  em  $Y$  na equação linear, equivale ao o fator de condição alométrico  $K$  deste estudo), ocorrendo uma relação inversa entre o valor do fator de condição alométrico  $K$  e o valor do coeficiente alométrico  $b$ , assim como foi observado nas linhagens de tilápia deste estudo, sendo o valor numérico de  $b$  crescente de acordo com o incremento em peso.

Barbieri et al. (2000), analisando o crescimento de *O. niloticus* da represa de Guarapiranga – São Paulo, observaram valores de fator de condição superiores (0,0390 para machos e 0,0322 para fêmeas) aos obtidos em juvenis deste trabalho, e atribuíram os altos valores à fartura de alimento e boa adaptação ao ambiente. Ao contrário do que foi observado em juvenis das linhagens de tilápia deste estudo, em *O. niloticus* da represa de Guarapiranga o incremento em peso foi baixo até os exemplares iniciarem a reprodução, provavelmente devido à ausência de limitações do ambiente para o crescimento em comprimento.

Segundo Brett (1979), na natureza, o crescimento inicial de peixes usualmente coincide com o aumento do comprimento ao dia. No entanto, em juvenis das linhagens de tilápia deste trabalho o crescimento em peso foi mais significativo, enquanto o crescimento em comprimento pode ter sido limitado pelo espaço restrito em que os indivíduos se encontravam.

A relação inversa observada entre as taxas de crescimento instantâneo para peso e comprimento no início do desenvolvimento larval das três linhagens de tilápia deste estudo, pode ser justificada pela influência da limitação de espaço sobre o declínio dos valores da taxa de crescimento em comprimento no início do desenvolvimento, ao mesmo tempo em que o espaço não foi um fator suficiente para impedir o processo natural de intensa

formação de tecidos e estruturas nos primeiros dias de vida, e conseqüente incremento acelerado das taxas de crescimento em peso no mesmo período.

As linhagens nilótica e tailandesa, que apresentaram os menores valores médios de fator de condição, apresentaram crescimento alométrico positivo, com o coeficiente alométrico  $b$  sendo numericamente bem acima de 3 na relação peso x comprimento, indicando que os indivíduos aumentavam mais em peso e menos em comprimento, mesmo motivo que levou estas linhagens à maiores taxas de crescimento em peso. A mesma alometria positiva foi observada na relação peso x comprimento da linhagem vermelha, com os valores do fator de condição aumentando quanto mais decrescia o valor numérico do coeficiente alométrico  $b$ , ou seja, o incremento em peso na linhagem vermelha, foi um pouco inferior às outras linhagens, resultando em maior fator de condição e menor taxa de crescimento da mesma.

Além da taxa de sobrevivência, a linhagem nilótica também apresentou média de proporção de machos um pouco superior à tailandesa, apesar das duas linhagens terem dado boas respostas após tratamento hormonal com 17- $\alpha$ -metiltestosterona. Apenas a proporção de machos da linhagem vermelha não foi tão satisfatória (90% de machos), pois uma percentagem de fêmeas superior a 5% não é aceitável em cultivo de tilápias (Ribeiro, 1996).

Hiott & Phelps (1993) avaliaram a influência do tamanho e da idade das larvas na reversão sexual e observaram que, com a mesma dose (60mg/k) de hormônio na ração e mesmo período de tratamento, larvas menores ( $\geq 11$  mm) apresentaram melhores respostas à reversão que larvas maiores ( $< 16$  mm), chegando a conclusão de que o tamanho é mais importante do que a idade para o sucesso da reversão. No entanto, nas tilápias deste estudo, idade e tamanho das larvas não influenciaram no sucesso da reversão, pois todas as larvas iniciaram ingestão de alimento com hormônio já no quarto dia de vida, quando o comprimento total estava por volta de 7 mm.

A média inferior da proporção de machos em vermelhas, quando comparada com as outras linhagens, foi afetada pela baixa resposta ao tratamento hormonal ocorrida na amostra 3 desta linhagem. Excluindo-se a repetição 3, a efetividade da reversão na linhagem vermelha fica entre as médias observadas em nilóticas e tailandesas. A possibilidade de considerar esta amostra como parcela perdida foi descartada pelo fato de ser um resultado biologicamente significativo, pois se foi provocado por condições ambientais inóspitas, esta linhagem mostrou-se mais sensível que as demais, já que todas estavam no mesmo ambiente.

Quedas na temperatura da água podem ter direcionado a baixa taxa de reversão sexual da amostra 3 da linhagem vermelha. As larvas deste berçário não se alimentaram corretamente durante o período de reversão sexual devido a alterações sazonais que levaram à baixas temperaturas da água dos tanques externos (observação pessoal). Provavelmente larvas desta repetição deixaram de ingerir a quantidade necessária de 17- $\alpha$ -metiltestosterona para a completa masculinização das gônadas.

Observando relatos sobre ocorrência de 60% de machos e 40% de fêmeas em grupos controle de estudos sobre tilápias (Leonhardt, 1997), há a possibilidade de que, na amostra 3 da linhagem vermelha, com apenas 75,69% de machos, a reversão sexual possa não ter ocorrido. Porém, a alta proporção de intersexos nesta amostra (6,35%) em relação as demais réplicas da mesma linhagem e demais linhagens, composta por testículos contendo alguns óvulos internos, sugere que a masculinização ocorreu, porém foi incompleta.

A taxa de reversão sexual observada nas linhagens nilótica e tailandesa deste estudo, com 98,73% e 96,23% de machos, respectivamente, foi superior à observada em outros estudos, onde larvas de *O. niloticus* com menos de 11 mm foram submetidas ao tratamento hormonal, sendo utilizados dosagem hormonal e períodos de tratamento

similares, com o percentual de machos chegando a 93,3% (Leonhardt, 1997) e 95,7% (Hiott & Phelps, 1993).

A proporção de intersexo obtida nas linhagens foi mais alta do que a proporção de fêmeas observada em nilóticas e tailandesas, e só não foi mais alta em vermelhas devido ao problema ocorrido na amostra 3, já descrito anteriormente. O tipo de intersexo observado foi, em sua maioria, composto por testículos contendo alguns ovócitos, geralmente localizados em sua região cefálica. Fatores que influenciaram nesta considerável produção de intersexos podem estar relacionados à quantidade e tempo de ingestão de 17- $\alpha$ -metiltestosterona.

Pandian & Sheela (1995) e Carvalho & Foresti (1996) relatam que a intersexualidade em tilápias pode ser causada por altas dosagens de andrógenos, ou pelo uso destes por períodos muito prolongados, causando um efeito paradoxal à reversão sexual devido a enzima aromatase, que converte andrógenos em estrógenos. Carvalho & Foresti (1996) obtiveram 100% de machos com gônadas normais após 40 dias de tratamento com 30 mg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona por quilo de ração em *O. niloticus*, e de 4% a 12% de intersexos em tratamentos prolongados e/ou doses superiores. O tipo de intersexos observado por estes pesquisadores em juvenis de 88 dias foi muito parecido com o observado em tilápias deste estudo (testículos com alguns ovócitos internos).

As diferentes médias de crescimento e sobrevivência observadas entre as três linhagens de tilápia aos 90 dias de idade provavelmente foram influenciadas por diferentes densidades de estocagem e, principalmente, por diferentes temperaturas agindo sobre os lotes ao longo do desenvolvimento.

As densidades de estocagem foram diferentes devido ao fato de cada coleta de ovos, obtida no início do experimento, ter composto uma amostra na íntegra, sem exclusão de larvas além das coletadas e excluídas por mortalidade natural. Porém, apesar das amostras, mesmo com número de indivíduos diferentes, terem sido alojadas em berçários

de mesmo tamanho, na comparação das médias do número de indivíduos por amostra, a linhagem nilótica apresentou as maiores densidades de estocagem, seguida pela linhagem vermelha e por último pela linhagem tailandesa.

A sequência de densidade nilótica>vermelha>tailandesa não corresponde com a ordem decrescente em tailandesa>nilótica>vermelha das taxas de crescimento e tailandesa >vermelha> nilótica das taxas de mortalidade obtidas aos 90 dias, não havendo indícios de que a densidade tenha influenciado nas diferenças entre as linhagens quanto às taxas de crescimento e mortalidade, que devem ter sido mais abaladas pela combinação de variações na temperatura da água e manejo extremamente estressante.

Ribeiro (1996) sugere a utilização de densidade de 3000 a 5000 larvas/m<sup>2</sup> durante a reversão sexual e de 100.000 a 125.000 juvenis por hectare após o período de reversão. A maior densidade de estocagem das linhagens de tilápia deste trabalho foi de 462,33 larvas/m<sup>3</sup> ou 0,46 larva/litro no período do tratamento hormonal e de 296,67 juvenis/ m<sup>3</sup> ou 0,30 juvenis/litro após a reversão.

Shelton et al. (1981), que trabalharam com *Tilapia aurea*, analisaram a efetividade da reversão sexual em densidade de 160 e 2600 larva/m<sup>2</sup> e observaram que após 28 dias de tratamento hormonal o crescimento das larvas em menor densidade foi melhor, porém obteve baixas taxas de mortalidade (> 10%) e altas taxa de reversão sexual (100% machos) nas diferentes densidades, com temperaturas da água variando de 24 a 32°C, concluindo que a densidade afeta o crescimento, mas não interfere na taxa de reversão e de sobrevivência. Os pesquisadores observaram crescimento diferenciado com a mesma espécie e mesmo período de tratamento, com 470 larvas/m<sup>2</sup>, em temperaturas controladas de 21 e 30°C, onde o crescimento foi muito superior em temperatura mais elevada.

Gall & Bakar (1999) testaram densidades de 10, 20, 30, 60, 120 e 200 larvas/litro, com indivíduos de *O. niloticus* de 14 a 56 dias, com a mesma taxa de renovação de água para todas as densidades e com taxa de renovação de água aumentando de acordo com a densidade. Os autores observaram altas taxas de sobrevivência em todas as densidades e

nas duas condições de renovação de água; com sobrevivência mínima de 88% na densidade de 200 larvas/litro com pior qualidade de água. No entanto, o crescimento no experimento com taxa de renovação de água constante foi igual entre as diferentes densidades, mas inferior quando comparado com as mesmas densidades em melhor qualidade de água. Quando a qualidade de água foi melhor, o crescimento só foi limitado pela falta de espaço nas densidades de 200 larvas/litro, não havendo diferenças significativas de 10 a 120 larvas/litro. Os pesquisadores concluíram que altas densidades podem ser usadas, sem danos quanto ao crescimento e mortalidade, quando a qualidade de água é mantida e os peixes são bem alimentados.

O estresse causado pelo manejo durante o experimento provavelmente foi um forte fator supressor da sobrevivência das três linhagens deste experimento. Com o delineamento experimental, tornou-se necessária a constante manipulação dos peixes enquanto vivos, principalmente no período crítico da metamorfose, quando as larvas foram coletadas diariamente; contadas em sua totalidade aos 8, 15 e 30 dias; transferidas de ambiente aos 8 dias (da incubadora para caixas de 120 litros), 15 dias (das caixas do laboratório para tanques-rede armados em tanques de terra externos), 30 dias (para tanques-rede de malha maior) e ainda, como fator amplificador do estresse, ocorreu o fato da malha dos tanques-rede usados durante os 30 dias de reversão ficar constantemente obstruída por fitoplâncton, precisando ser escovada a cada 3 dias.

As taxas de sobrevivência ao final da reversão sexual (após os 30 dias), observadas nas linhagens nilótica, tailandesa e vermelha (de 76%, 30% e 65%, respectivamente) foram inferiores ao observado por outros pesquisadores durante o mesmo período. (Leonhardt,1997) observou sobrevivência de 92,2% de larvas de *O. niloticus* após a reversão sexual.

Variações na temperatura da água durante o período experimental provavelmente contribuíram para os valores obtidos nas taxas de crescimento e de sobrevivência. O período sazonal durante o desenvolvimento das três linhagens não foi o mesmo. Todos os

juvenis de nilóticas foram obtidos de ovos coletados na primeira quinzena de fevereiro/2003 e na primeira semana do mês de maio já haviam completado 90 dias de vida, enquanto algumas amostras das linhagem vermelha e tailandesa só foram obtidas de ovos coletados na segunda quinzena do mês de março, completando 90 dias apenas no mês de junho, sofrendo a ação de temperaturas mais baixas em alguns momentos do desenvolvimento.

Apesar das médias dos parâmetros de qualidade de água analisados (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, amônia e condutividade elétrica) estarem dentro dos valores normais para o bom desenvolvimento de tilápias, ocorreram alguns momentos críticos de mudanças bruscas nas condições ambientais, principalmente em relação à temperatura da água dos tanques onde ficavam os indivíduos com mais de 15 dias. No período entre o dia 07/05 e 05/06/2003 a temperatura da água não ultrapassou 20°C em nenhum momento, com mínimas de 18°C em alguns dias deste período. Mesmo antes disto, do dia 08/04 a 06/05/2003, a temperatura da água nos tanques externos foi de  $22,5 \pm 1^\circ\text{C}$ , onde estavam algumas amostras das linhagens tailandesa e vermelha com menos de 30 dias de vida e ainda passando por tratamento hormonal. Na linhagem nilótica, por sua vez, a partir da primeira semana do mês de abril, todas as amostras já estavam com mais de 60 dias.

A amostra 2 da linhagem tailandesa, que completaria o tratamento hormonal no dia 24/04/2003, foi totalmente dizimada com as baixas temperaturas no início do desenvolvimento, e no dia em que as larvas completariam 30 dias de idade, foi registrada sobrevivência inferior a 5% nesta repetição, chegando a 0% quatro dias mais tarde.

Segundo Brett (1979), as taxas de crescimento de uma espécie de peixe exposta a uma situação de temperatura ótima constante e a outra situação de temperatura flutuando dentro de um limite de tolerância, ao final de um determinado período, podem ter médias equivalentes para os dois casos, porém a curva de crescimento diário obtida para o segundo

caso seria muito complexa e as médias não seriam equivalentes caso a oscilação da temperatura do segundo caso alcançasse valores extremos, além do limite de tolerância.

Rana (1990a; 1990b) observou que em *O. niloticus* o limite de tolerância à variações na temperatura diminui quanto mais iniciais forem os estágios de desenvolvimento, com médias tolerância máxima e mínima para larvas da espécie, em início de alimentação exógena, sendo de 32,1°C e 21,8°C, respectivamente, e que a temperatura ótima para a máxima sobrevivência e crescimento dos estágios iniciais deve variar entre 28 a 30°C, reforçando que as altas taxas de mortalidade e baixas taxas de crescimento observadas em larvas e juvenis das linhagens de tilápia deste trabalho sofreram a influencia das variações bruscas na temperatura.

Rezk et al. (2002), ao compararem a resposta de crescimento de 7 diferentes populações de tilápia (quatro populações de *O. niloticus*, uma de *O. aureus*, uma de *Tilapia zillii* e uma de *Sarotherodon galilaeus*) ao declínio na temperatura da água, observando que com as mudanças sazonais e a queda gradativa da temperatura de 32,7 para 15,9°C, todas as populações tiveram o crescimento reduzido já aos 25°C, porém o gênero *Oreochromis* mostrou menor sensibilidade às quedas de temperatura. Quando a temperatura da água chegou em 25°C, o aumento em peso de *O. aureus* mantinha-se com 93% do que era aos 32,7°C, enquanto na população de *T. zillii* o aumento em peso foi reduzido para 10%. Com temperatura de 20°C, uma população de *O. niloticus* ainda tinha incremento em peso de 43% e *T. zillii* apresentou crescimento negativo de -3%. Diferentes respostas às quedas na temperatura também foram observadas entre as populações de *O. niloticus*, porém com valores menos significativos.

Apesar das diferenças observadas entre as linhagens de tilápia nilótica, tailandesa e vermelha quanto às taxas de crescimento e no comprimento total dos juvenis aos 90 dias de idade, não ocorreram grandes diferenças no comprimento total das larvas das três linhagens ao final do período de reversão sexual, quando as médias de comprimento foram de 22,81 ±

1,27 mm em nilóticas,  $22,69 \pm 2,94$  mm em tailandesas e  $22,57 \pm 1,89$  mm em vermelhas. Outros pesquisadores observaram tamanhos muito próximos aos observados nas linhagens deste estudo ao final da reversão sexual. Leonhardt (1997) obteve juvenis com média de 2,65 cm após 28 dias de tratamento, porém já eram indivíduos de aproximadamente 38 dias, pois quando foram submetidas ao tratamento tinham em torno de 11 mm de comprimento total, que corresponde a larvas de *O. niloticus* de  $\pm 10$  dias (observação pessoal).

Mesmo que a linhagem nilótica (a primeira da qual se obteve desovas para dar início ao período experimental) tenha sido privilegiada pelas condições climáticas durante seu desenvolvimento e período de reversão sexual, a própria dificuldade de se conseguir desovas viáveis em quantidade e em qualidade nas fêmeas das linhagens tailandesa e vermelha, na mesma época em que já se conseguia de nilóticas (para compor réplicas do experimento), já foi um indicador de diferenças no grau de sensibilidade destas linhagens. Não só as diferenças na dificuldade de obtenção de desovas, como as diferentes respostas entre tailandesas e vermelhas às quedas de temperatura, são indicadores de diferenças não só fisiológicas, mas também comportamentais entre as linhagens.

## CONCLUSÕES

Quanto às linhagens de tilápia analisadas, os resultados do presente estudo possibilitaram concluir que nas condições em que foi realizado o experimento:

- Diferenças entre as linhagens quanto a fecundidade, ao diâmetro de ovos, tamanho e tempo de absorção do saco vitelino, tempo de formação de raios nas nadadeiras, padrão de pigmentação de linhagens de *O. niloticus* durante o desenvolvimento larval e velocidade de crescimento do comprimento da cabeça durante a metamorfose, são de conatação linhagem específica;

- A queda brusca no crescimento da altura do corpo em relação ao comprimento total, ocorrida em larvas de todas as linhagens no momento de transição de alimentação endógena para exógena, é provocada pela rápida absorção de reservas endógenas;

- Em todas as linhagens, o rápido crescimento do olho em relação ao comprimento da cabeça até o 4º dia de idade, a alta taxa de crescimento instantâneo em comprimento e desenvolvimento de raios nas nadadeiras durante a 1ª semana de vida, o início da alimentação exógena no 4º dia e enchimento total da vesícula gasosa até o 6º dia de vida, indicam que a formação da acuidade visual e de estruturas necessárias para adquirir habilidade natatória na 1ª semana de desenvolvimento, permitem às larvas explorarem o ambiente antes mesmo da absorção final do saco vitelino e do final da metamorfose;

- O mais intenso desenvolvimento morfológico, em larvas de todas as linhagens, ocorreu na 1ª semana da metamorfose, comprovado pelas alterações no padrão de crescimento de todas as relações lineares (“stanzas”), alometria negativa na relação peso e comprimento, alta taxa de crescimento em comprimento e baixa taxa de crescimento em peso neste período;

- Aos 90 dias de desenvolvimento, a alometria positiva na relação peso e comprimento e os baixos valores de fator de condição (K) obtidos em juvenis de todas as linhagens revelaram que o crescimento em peso foi mais significativo, com o crescimento em comprimento sendo limitado pelo espaço restrito do local de cultivo;

- Como reprodutores de todas as linhagens estavam em condições iguais e controladas, a ocasional falta de desovas por fêmeas de algumas linhagens ocorreu devido à respostas comportamentais diferenciadas quanto ao manejo, mesmo fator que influenciou nas diferenças quanto às taxas de reversão sexual, crescimento e mortalidade, obtidas em larvas e juvenis das linhagens que estavam sob mesmo período sazonal, e responderam de forma diferenciada não só ao manejo, como também às condições inóspitas do ambiente.

## REFERÊNCIAS

- Ahlstrom, E. H; Butler, J. L.; Sumida, B. Y. 1976. Pelagic stromateoid fishes (Pisces, Perciformes) of the Eastern Pacific: kinds, distributions, and early life histories and observations of five of these from the northwest Atlantic. **Bulletin of Marine Science**, Miami, 26(3):285-402.
- Barbieri, G.; Vermulm Jr., H.; Giamas, M. T. D.; Teixeira-Filho, A. R.; Campos, E. C. 2000. Biologia populacional da tilápia, *Oreochromis niloticus*, da represa de Guarapiranga, São Paulo – I. Estrutura da população, idade e crescimento. **Boletim do Instituto de Pesca**, 26(1):1-7.
- Bern, O.; Avtliou, R. R. 1990. Some morphological aspects of fertilization in tilapias. **Journal of Fish Biology**, 36:375-381.
- Bhujel, R. C. 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapu-based systems. **Aquaculture**, 181:37-59.
- Blaxter, J. H. S. 1969. Development: eggs and larvae. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J. (Editors). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v. III, p. 178-252.
- Blázquez, M.; Piferrer, F.; Zanuy, S.; Carrillo, M.; Donaldson, E. M. 1995. Development of Sex control techniques for European sea bass (*Dicentraechus labrax* L.) aquaculture: effects of dietary 17 $\alpha$ -methyltestosterone prior to sex differentiation. **Aquaculture**, 135:329-342.

Bonislawska, M.; Formicki, K.; Winnicki A. 2000. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, 30(1):61-71.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_ 2001. Fish egg size variability: biological significance. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, 4(2):61-71. Series FISHERIES Disponível em: <<http://www.ejpau.media.pl/series/volume4/issue2/fisheries>> Acesso em: 03/11/03.

Braga, F. M. de S. 1997. Análise da equação alométrica na relação peso e comprimento e fator de condição em *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Sciaenidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 7(3):417-425.

\_\_\_\_\_ 1993. Análise do fator de condição de *Paralichthys brasiliensis* (Perciformes, Sciaenidae). **Revista Unimar**, 15(2):99-115.

\_\_\_\_\_ 1986. O estudo entre fator de condição e relação peso/comprimento para alguns peixes marinhos. **Revista Brasileira de Biologia**, 46(2):339-346.

Brett, J. R. S. 1979. Environmental factors and growth. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (Editors). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v. VIII, p. 599-675.

Brooks, S.; Tyler, C. R.; Sumpter, J. P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish and Fisheries**, 7:387-416.

Carvalho, E. D.; Foresti, F. 1996. Reversão do sexo em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* Trewavas, 1983, induzida por 17-alfa-metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. **Revista Brasileira de Biologia**, 56(2):249-262.

- Chambers, R. C.; Leggett, W. C. 1996. Maternal influences on variation in egg sizes in temperate marine fishes. **American Zoologist**, 36:180-196.
- Coleman, R. M.; Galvani, A. P. 1998. Egg size determines offspring size in neotropical cichlid fishes (Teleostei: Cichlidae). **Copeia**, (1):209-213.
- Dan, N. C.; Little, D. C. 2000. The culture performance of monosex and mixed-sex new-season and overwintered fry in three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in northern Vietnam. **Aquaculture**, 184:221-231.
- Duarte, C. M.; Alcaraz, M. 1989. To produce many small or few large eggs: a size-independent reproductive tactic of fish. **Oecologia**, 80:401-404.
- Ehlinger, T. J. 1991. Allometry and Analysis of Morphometric Variation in the Bluegill, *Lepomis macrochirus*. **Copeia**, 2:347-357.
- Einum, S.; Fleming, I. A. 2002. Does within-population variation in fish egg size reflect maternal influences on optimal values? **The American Naturalist**, 160(6):756-765.
- Ekau, W.; Blay, J. 2000. Validation of daily increment deposition and early development in the otoliths of *Sarotherodon melanotheron*. **Journal of Fish Biology**, 57: 1539-1549.
- Eyson, K. N. 1979. Studies on egg production, spawning and fry development in *Tilapia melanotheron*. **Ghana Journal of Science**, 17(1):25-34.
- Fowler, J.; Cohen, L.; Jarvis, P. 1998. **Practical statistics for field biology**. Chichester: John Wiley & Sons, 259 p.

- Fuiman, L. A. 1983. Growth gradients in fish larvae. **Journal of Fish Biology**, 23:117-123.
- Gall, G. A. E.; Bakar, Y. 1999. Stocking density and tank size in the design of breed improvement programs for body size of tilapia. **Aquaculture**, 173:197-205.
- Galman, O. R.; Avtalion, R. R. 1989. Further study of the embryonic development of *Oreochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) using scanning electron microscopy. **Journal of Fish Biology**, 34:653-664.
- Gisbert, E.; Williot, P.; Castelló-Orvay, F. 2000. Influence of egg size on growth and survival at early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. **Aquaculture**, 183:83-94.
- Goltermann, H. L.; Clymo, R. S.; Ohnstad, M. A. M. 1978. **Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters**. London: Blackwell Science Publication, IBP Handbook number 8, 214 p.
- Green, B. W.; Teichert-Coddington, D. R. 1993. Production of *Oreochromis niloticus* fry for hormonal Sex reversal in relation to water temperature. **Journal of Applied Ichthyology**, 9:230-236.
- Guerrero, R. D.; Shelton, W. L. 1974. An acetato-carmin squash technique for sexing juvenile fishes. **The Progressive Fish-Culturist**, 36:56.
- Hiott, A. N.; Phelps, R. P. 1993. Effects of initial age and size on Sex reversal of *Oreochromis niloticus* fry using methyltestosterone. **Aquaculture**, 112:301-308.

- Jonsson, N; Jonsson, B. 1999. Trade-off between egg mass and egg number in brown trout. **Journal of Fish Biology**, 55:767-783.
- Kjorsvik, E.; Mangor-Jensen, A. Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. **Advances in Marine Biology**, 26:71-113.
- Leonhardt, J. H. 1997. **Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. 1997. 128 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Lingling, W.; Qianru, C. 1981. Observation on the embryonic and larval development of tilapia nilotica. **Acta Zoologica Sinica**, 27(4):327-336.
- Mejjidi, F. J.; Guerrero, G. A. 2000. Embryonic and larval development of a substrate-brooding cichlid *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. **Journal of Zoology London**, 252:481-493.
- Mendes, P. P. 1999. **Estatística aplicada à aquicultura**. Recife: Bagaço, 265 p.
- Morley, S. A.; Batty, R. S.; Geffend, A. J.; Tytler, P. 1999. Egg size manipulation: a technique for investigating maternal effects on the hatching characteristics of herring. **Journal of Fish Biology**, 55(supplement A):233-238.
- Morrison, C. M.; Miyake, T.; Wright Jr, J. R. 2001. Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). **Journal of Morphology**, 247:172-195.

- Nakamura, M.; Kobayashi, T.; Chang, X. T.; Nagahama, Y. 1988. Gonadal Sex differentiation in teleost fish. **The Journal of Experimental Zoology**, 281:362-372.
- Nakatani, K.; Agostinho, A. A.; Baumgartner, G.; Bialezki, A.; Sanches, P. V.; Cavicchioli, M. 2001. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: UEM/Nupélia, 359p.
- Pandian, T. J.; Sheela, S. G. 1995. Hormonal induction of Sex reversal in fish. **Aquaculture**, 138:1-22.
- Payne, A.I.; Collinson, R. I. 1983. A comparison of the biological characteristics of *Sarotherodon niloticus* (L.) with those of *S. aureus* (Steindachner) and other tilapia of the delta and lower Nile. **Aquaculture**, 30:335-351.
- Peña, C. J.; Sanches, R. M.; Jamett, M. M. 1988. Desarrollo embrionario, larval y del alevín de *Cichlasoma dovii* (Günther, 1864) (Pisces: Cichlidae). **Revista de Biología Tropical**, 36(2b):417-422.
- Peres-Neto, P. R. 1995. Introdução a análises morfométricas. In: Peres-Neto, P. R.; Valentin, J. L.; Fernandez, F. A. S. **Tópicos em tratamentos de dados biológicos**. Rio de Janeiro: Oecologia Brasiliensis, 2:57-89.
- Pinto, C. S. R. M. 1988. **Criação de tilápias**. São Paulo: Instituto de Pesca (Boletim Técnico, 10):13pp

- Rana, K. J. 1985. Influence of egg size on the growth, onset of feeding, point-of-no-return, and survival of unfed *Oreochromis mossambicus* fry. **Aquaculture**, 46(2):119-131.
- \_\_\_\_\_ 1990a. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. I. Gross embryonic, temperature tolerance and rates of embryonic development. **Aquaculture**, 87:165-181.
- \_\_\_\_\_ 1990b. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. II. Survival, growth and feeding of fry developing solely on their yolk reserves. **Aquaculture**, 87:183-195.
- Rezk, M. A.; Kamel, E. A.; Ramadan, A. A.; Dunham, R. A.. 2002. Comparative growth of Egyptian tilapias in response to declining water temperature. **Aquaculture**, 207:239-247.
- Ribeiro, M. A. G. 1996. Reversão sexual de tilápias. **Panorama da Aqüicultura**. Edição set/out:14-18.
- Ricker, W. E. 1979. Growth rates and models. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J.; Brett, J. R. (Editors). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v. VIII, p. 677-743.
- Rodríguez, J. A.; Alpírez, O.; Murillo, R. 1989. Desarrollo larval de *Cichlasoma managuense* (Pisces:Cichlidae) en condiciones de laboratorio. **Brenesia**, 31:11-20.
- Santos, E. P. dos. 1978. **Dinâmica de Populações Aplicada à Pesca e Psicultura**. São Paulo: Hucitec-Edusp, 129 p.

- Sargent, R. C.; Taylor, P. D.; Gross, M. R. 1987. Parental care and the evolution of egg size in fishes. **The American Naturalist**, 129(1):32-46.
- Shelton, W. L.; Guerrero, D. R.; Macias, J. L. 1981. Factors affecting androgen Sex reversal of *Tilapia aurea*. **Aquaculture**, 25(1):59-65.
- Siegel, S. 1975. **Estatística não-paramétrica**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 350p.
- Smith, E. S.; Phelps, R. P. 1996. Reproductive efficiency, fry growth, and response to Sex reversal of Nile and red tilapia. Pond Dynamics/ Aquaculture CRSP. **Office of International Research and Development**, Corvallis: Oregon State University, study 6:105–107.
- Sokal, R.; Rohlf, F. J. 1981. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 857 p.
- Vanzolini, P. E. 1993. **Métodos Estatísticos Elementares em Sistemática Zoológica**. São Paulo: Hucitec, 130 p.
- Vazzoler, A. E. de M. 1996. **Biologia e Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática**. Maringá: CNPq – Nupélia, 169 p.
- Wootton, R. J. 1994. Life histories as sampling devices: optimum egg size in pelagic fishes. **Journal of Fish Biology**, 45:1067-1077.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J. (Editors). **Fish Physiology**. V. III, New York: Academic Press, p. 117-175.

Zhukinskiy, V. N.; Gosh, R. I. 1988. Criteria of biological quality of eggs of commercial fishes and a method for rapid assessment. **Journal of Ichthyology**, 28(6):106-114.