

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**REVERSÃO SEXUAL DE TILÁPIAS GIFT CRIADAS EM HAPAS
E SUBMETIDAS A DIFERENTES TAXAS DE ALIMENTAÇÃO EM
ALTA FREQUÊNCIA**

ANDERSON APARECIDO DIAS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para a obtenção do título de
Mestre

BOTUCATU – SP

Junho – 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**REVERSÃO SEXUAL DE TILÁPIAS GIFT CRIADAS EM HAPAS
E SUBMETIDAS A DIFERENTES TAXAS DE ALIMENTAÇÃO EM
ALTA FREQUÊNCIA**

ANDERSON APARECIDO DIAS SANTOS
Zootecnista

Orientador: PROF. Dr. CLÁUDIO ANGELO AGOSTINHO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para a obtenção do título de
Mestre

BOTUCATU – SP
Junho - 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP -
FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Santos, Anderson Aparecido Dias, 1984-
S237r Reversão sexual de tilápias GIFT criadas em hapas e
submetidas a diferentes taxas de alimentação em alta
frequência / Anderson Aparecido Dias Santos. - Botucatu :
[s.n.], 2015
v, 40 f. : grafs. color, tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
2015
Orientador: Cláudio Angelo Agostinho
Inclui bibliografia

1. Tilápia do Nilo - Alimentação e rações. 2. Peixe -
Larva. 3. Hormônios sexuais. 4. Estrogênios. I. Agostinho,
Cláudio Angelo. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Medi-
cina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

Aos meus pais, familiares e amigos, dedico esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que passei para chegar até onde estou e por me dar forças para continuar prosseguindo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização da Pós-Graduação;

Aos meus pais, José Domingos Santos e Iraci Pachelli Dias Santos por todo amor, carinho, responsabilidade, educação, apoio moral, financeiro e por tudo que me faz ser quem hoje eu sou;

À FAPESP, processo 2011/50737-4, por financiar o projeto;

Ao Professor Claudio Ângelo Agostinho pelo exemplo de pessoa e profissional, sempre preocupado com os orientados e pelos ensinamentos passados;

À Sueli pela amizade e preocupação nas viagens e biometrias;

Ao Moises e ao Rony, pelo auxílio oferecido durante o experimento e pela disponibilização das instalações;

A Piscicultura Pescados Vitoreli e funcionários por toda a ajuda;

Ao Luciano Oliveira e ao grupo SGARBI, por disponibilizarem as larvas para que o experimento fosse realizado;

Aos amigos do Setor de Aquicultura da UNESP: Célio, Daniel, Gabriel, João, Junior, Obedias, Rapha, Paula e estagiários pelos churrascos, violadas, companheirismo e paciência;

Aos meus amigos que estavam ao meu lado sempre que precisei, Leo, Bruninho, Danilinho, Xereu, Paulinho, Matheus, Caio, Gabriela Rosseto, Amanda Godoy, Amanda Alves, Cibeles;

A todos que de alguma forma colaboraram para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	Página
1 Considerações iniciais.....	2
1.1 Aquicultura no Brasil.....	2
1.2 Tilápias da linhagem GIFT.....	3
1.3 Reprodução.....	4
1.4 Reversão sexual.....	5
1.4.1 Imersão.....	7
1.4.2 Temperatura.....	7
1.4.3 Ração com hormônio.....	8
1.5 Danos causados por hormônios.....	9
1.6 Manejo alimentar.....	11
1.7 Automação do manejo alimentar.....	12
1.8 Referências bibliográficas.....	14

CAPÍTULO II	Página
--------------------	---------------

ALIMENTAÇÃO AUTOMÁTICA EM ALTA FREQUÊNCIA E DIMINUIÇÃO DO TEMPO DE REVERSÃO SEXUAL DE LARVAS DE TILÁPIAS

Resumo.....	25
Abstract.....	26
Introdução.....	27
Materiais e métodos.....	28
Resultados.....	30
Discussão.....	31

Conclusão.....	35
Referências Bibliográficas.....	36

CAPITULO I
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 Aquicultura no Brasil

O Brasil apresenta ótimas condições para a piscicultura devido ao grande potencial hídrico para a produção de peixes, seja ele marítimo ou continental. Além disso, é um dos maiores produtores de grãos, especialmente soja e milho que são os ingredientes básicos na fabricação de rações.

A produção brasileira de pescados apresentou significativo crescimento nos últimos anos, passando de 278 mil toneladas em 2003 para 415 mil em 2009, o que equivale a 35% de incremento em menos de uma década. Já a produção da piscicultura atingiu 60,2% de crescimento apenas entre 2007 e 2009, isoladamente a produção de tilápia aumentou 105% em apenas sete anos (2003-2009). Em conjunto, a aquicultura cresceu 43,8%, entre 2007 e 2009, tornando a produção de pescado a que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período (MPA, 2014)

Desde 2003, as importações têm aumentado regularmente, chegando a quase US \$ 1,3 bilhões em 2011, mas tiveram um ligeiro declínio de 1 por cento em 2012 chegando a US \$ 1,2 bilhões. As exportações aumentaram de USD 123 milhões em 1998 para USD 427 milhões em 2004, mas em 2012, reduziram para USD 212 milhões devido ao aumento na demanda de seu mercado interno e o fortalecimento da moeda nacional frente ao dólar (FAO, 2010).

Dentre as espécies cultivadas no Brasil em 2007, a tilápia alcançou o primeiro lugar com 92 mil toneladas, seguida pelo camarão da pata branca com 65 mil toneladas e pelas carpas com 34,7 mil toneladas (FAO, 2010). A carpa é a espécie de peixe mais produzida no mundo seguida da tilápia (SUGANUMA, 2004; MOREIRA et al., 2011)

O pescado é alimento de alto valor nutricional e o seu consumo pode elevar de forma significativa o nível de nutrição e saúde da população, devido aos baixos teores de gordura (SOUSA, 2010) e ácidos graxos ômega 3. O consumo per capita de pescados no Brasil não alcança o mínimo recomendado pela Organização Mundial de Saúde, que é de 12 kg por habitante por ano (MPA, 2010), de 2007 a 2010 o consumo per capita passou de 6,9 para 8,9 kg e no ano de 2013, o consumo de pescados chegou a aproximadamente 10 kg (MPA, 2014).

1.2 Tilápias da linhagem GIFT

As tilápias (*Oreochromis niloticus*) são ciclídeos africanos que foram introduzidos no Brasil e se adaptaram a quase todo território nacional com faixa de temperaturas entre 14 a 33° C (RODRIGUES et al., 2013). São animais precoces, rústicos, suportam manejos intensivos e são mais resistentes a doenças (PEZZATO et al., 1986)

A tilápia em ambiente natural alimenta-se principalmente de fitoplâncton, algas bentônicas, insetos aquáticos, pequenos crustáceos, entre outros e quando criadas em viveiros podem ser alimentadas com rações extruzadas ou peletizadas (RODRIGUES et al., 2013).

Várias linhagens de tilápias têm sido criadas no Brasil, entre elas destacamos a GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilápia) que tem sido utilizada por muitos piscicultores do estado do Paraná e São Paulo. Esta linhagem começou a ser desenvolvida a partir de um projeto em que o principal objetivo era melhoramento genético de peixes tropicais (GUPTA & ACOSTA, 2004).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi escolhida pelo World Fish Center em 1988, por sua rusticidade, adaptabilidade a diferentes habitats e maior resistência a doenças. A criação da nova linhagem GIFT ocorreu por meio de cruzamentos entre quatro linhagens comerciais puras de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens selvagens comumente cultivadas na África (GUPTA & ACOSTA, 2004).

Em 2005 o Brasil foi o primeiro país da América Latina a receber a linhagem GIFT por intermédio da Estação Experimental em Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR) e foram importadas 30 famílias (JÚNIOR et al., 2008). Pesquisas recentes mostram que mesmo após terem sido selecionadas as linhagens brasileiras continuam com altos valores de variabilidade e diversidade genética (OLIVEIRA et al, 2011).

A linhagem GIFT cultivada no Brasil em 2012 já se encontrava na quarta geração de seleção (G4). Por meio da seleção genética, o ganho em peso diário aumenta anualmente em 4% (OLIVEIRA et al., 2013).

Animais geneticamente superiores tendem a tornarem-se mais exigentes, portanto a disponibilização destes animais para o setor produtivo pode exigir adequações nas condições de cultivo, principalmente no manejo nutricional e sanitário buscando assim

potencializar a expressão da qualidade genética. Desta forma, resultados dos programas de melhoramento genético de peixes estão fortemente associados ao desenvolvimento de outros setores da cadeia produtiva, de maneira que quanto maior a sintonia entre os produtores de linhagens selecionadas e os setores responsáveis pela melhoria nas condições de cultivo, maiores serão os ganhos obtidos pelos piscicultores (OLIVEIRA et al., 2013).

1.3 Reprodução

A tilápia apresenta maturação sexual precoce com desova parcelada e reprodução natural em viveiros. Segundo Peña-Mendonza (2005), ela atinge sua maturação sexual com tamanho aproximado de 152 mm e com 40 gramas de peso. Para evitar a reprodução durante o período de produção os piscicultores utilizam plantéis monossexo masculino (RODRIGUES et al., 2013).

Os machos de *Oreochromis niloticus* fazem ninhos no fundo do tanque, onde a fêmea deposita seus ovos. Após a fecundação a fêmea protege a prole incubando os ovos na boca. As gônadas dos machos são formadas por duas estruturas alongadas e de forma lobular, localizadas dentro da cavidade celomática entre a parte dorsal da cavidade e a bexiga natatória. As gônadas das fêmeas consistem em ovários pares alongados, achatados dorsoventralmente, situados na cavidade celômica, à qual está ligada pelos mesovário em posição ventral à bexiga natatória (NOGUEIRA, 2003).

No Brasil, as pisciculturas realizam a reprodução em viveiros ou em laboratórios com incubação artificial. O primeiro método é menos eficiente, pois durante a coleta de nuvem não é possível coletar todas as larvas, comprometendo a eficiência da reversão sexual, pois as larvas que sobraram da reprodução anterior não poderão mais ser revertidas nas próximas coletas, tendo em vista que o tratamento hormonal para masculinização só pode ser realizada com eficiência em larvas recém-eclodidas. Na incubação artificial dos ovos, estes são coletados da boca da fêmea e levados a incubadoras onde permanecem até a eclosão. As larvas recém eclodidas são carregadas pelo fluxo da água até as bandejas e a partir deste momento tem início tratamento para a reversão sexual com larvas que apresentam a mesma idade (RODRIGUES, 2013).

1.4. Reversão sexual

O sexo da *Oreochromis niloticus* é determinado geneticamente pelos cromossomos XX para as fêmeas e XY para os machos, entretanto, fatores ambientais podem interferir na definição do sexo fisiológico (PIFERRER, 2001). Durante o desenvolvimento embrionário, a distinção morfológica das células germinativas não está definida, podendo se definir de acordo com fatores exógenos em oogônia ou espermatogônia (FOSTIER et al., 1983).

Nas criações comerciais de tilápia as fêmeas geralmente são excluídas do viveiro para prevenir a reprodução indesejada que pode acarretar em superpopulação e crescimento desuniforme. As fêmeas podem ser eliminadas manualmente pela visualização da papila urogenital na fase de juvenis, mas esta é uma técnica demorada e inviável na produção comercial de tilápias. A produção de híbridos entre *Oreochromis niloticus* e *Oreochromis hornorum* foi inicialmente uma técnica eficiente de produção de plantel monossexo macho, entretanto era difícil manter as linhagens puras para realizar os cruzamentos interespecíficos e as proles eram menores devido a incompatibilidade reprodutiva interespecífica. A técnica mais recente para a produção de alevinos machos de tilápia é a reversão sexual que pode ser obtida pelo fornecimento de ração com hormônio masculinizante para a larva recém eclodida (POPMA & GREEN, 1990).

Apesar da definição do sexo ser determinada geneticamente, o processo é maleável e depende de vários fatores, tais como temperatura e uso de hormônios exógenos que irão alterar o sexo durante a diferenciação (POPMAN & GREEN, 1990; BAROILLER et al. 1999). Segundo Baroiller et al. (1999) elevadas temperaturas (34 a 35°C) também podem induzir os fenótipos masculinos quando aplicados no período crítico de diferenciação das gônadas, testes de progênie demonstram que há um componente genético nesta termo-sensibilidade e conseqüentemente a determinação do sexo é governada pela interação entre a temperatura e o genótipo, portanto, a indução da masculinização por temperatura elevada ainda não se tornou técnica viável devido a variabilidade genética encontrada em populações de tilápia, interferindo no número final de larvas revertidas.

Nas criações de tilápia do Brasil e do mundo são utilizadas populações monossexo obtidas pelo método chamado reversão sexual (TACHIBANA et al., 2004). Os primeiros

estudos com reprodução, diferenciação gonadal e influência de hormônios na determinação do sexo em peixes foram realizados há mais de 40 anos por Yamamoto (1969) e muitos parâmetros que foram definidos na época ainda continuam sendo utilizados (DEVLIN, 2002). O hormônio mais utilizado na reversão sexual de tilápias é 17- α -metiltestosterona (PANDIAN & SHELLA, 1995).

O uso de hormônio para obtenção de populações monossexo machos pode trazer vários benefícios para a piscicultura, um deles seria o fato de os machos, quando criados na ausência de fêmeas, não expressam comportamento territorialista e tem uma taxa de crescimento específico maior do que machos criados em tanques mistos (GITHUKIA et al., 2015), os machos apresentam metabolismo mais acelerado e maior capacidade de digestão, que pode ser explicado pelas diferenças de níveis hormonais presentes em seus organismos, fazendo com que eles atinjam maior peso e tamanho do que as fêmeas (TOGUYENI, 1997). As fêmeas incubam seus ovos na boca para protegê-los, impedindo que as mesmas se alimentem durante este período, sendo este um fator limitante para a produção (RAKOCY & MCGINTY, 1990). Outra vantagem da criação de plantéis monossexo é a redução dos riscos de disseminação de uma espécie exótica caso ocorram fugas (BEARDMORE et al., 2001).

A definição do sexo das tilápias vai ser determinada por uma série de eventos que ocorrerão após a eclosão e que permaneceram consistentes até a definição do sexo fenotípico (DEVLIN, 2002). Para que a reversão sexual seja considerada eficiente, espera-se o valor mínimo de 95% de masculinização (POPMA e LOVSHIN, 1996), porém com o auxílio da alimentação automática estes índices podem chegar a 100% de machos (SOUSA, 2010; OLIVEIRA, 2010). Vários estudos estão sendo conduzidos com o intuito de definir qual o tempo ideal de reversão para cada espécie, mostrando que os tratamentos hormonais podem se limitar a curtos períodos de tempo quando realizados na fase de maior sensibilidade da espécie (PIFERRER, 2001), evitando que o excesso de hormônio seja lançado no meio ambiente (SOUSA, 2010; OLIVEIRA, 2010).

Dentre as técnicas de obtenção de população monossexo podemos citar o banho de imersão, a temperatura e a oferta de ração com hormônio.

1.4.1. Banho de imersão

O banho de imersão é uma técnica que está em desenvolvimento e não tendo assim um protocolo de utilização. Segundo Zanardi et al. (2009) o banho de imersão pode ser realizado em larvas ao 6º e ao 10º dia após a eclosão, as larvas são mantidas durante 36 horas em solução aquosa com 6 mg de hormônio/L⁻¹. Os banhos de imersão podem resultar em até 83% de indivíduos machos (BOMBARDELLI & HAYASHI, 2005) e baixa mortalidade (GALE et al., 1999. ZANARDI et al., 2006). Outra vantagem da reversão por imersão é que os resíduos de hormônio masculinizante podem ser retidos em filtros de carvão ativado (SPECKER & CHANDLEE, 2003).

Estudos de reversão sexual por banho de imersão vêm sendo realizados na busca dos melhores períodos ontológicos para esta técnica (BILLY & LILEY, 1985 PIFERRER & DONALDSON, 1989; GALE et al., 1999; BOMBARDELLI & HAYASHI, 2005; ZANARDI et al., 2006, 2009).

Bombardelli e Hayashi (2005), utilizaram 1200 larvas na reversão sexual por meio do banho de imersão e testaram diferentes tempos ontogenéticos das larvas (5, 7, 9, 11, 13 e 15 dias após a eclosão) utilizando banhos de imersão com 2 mg/L de 17- α -metiltestosterona durante 36 horas. Os melhores resultados foram obtidos aos 15 dias pós eclosão com 85,19% de machos.

1.4.2. Temperatura

A masculinização por exposição das larvas a altas temperaturas quando comparado aos outros métodos de criação de população monossexo é uma técnica recente. O controle da temperatura é essencial para otimizar o desenvolvimento de indivíduos jovens, as fases iniciais de vida são mais sensíveis às condições térmicas do que as demais (AZAZA, 2008).

Baras et al. (2001), avaliaram a reversão sexual em sucessivos experimentos utilizando temperaturas que variavam de 20 a 39 °C, durante 28 dias. O grupo controle foi mantido a 27°C e resultaram em 49 a 60% de machos. Os tratamentos com temperaturas entre 20 e 33°C não diferiram significativamente do grupo controle e nos tratamentos acima de 37°C o número de machos foi de 70 até 100%, todavia, a

mortalidade aumentou significativamente. Azaza (2008) encontrou resultados semelhantes de masculinização onde larvas que permaneceram em temperaturas abaixo de 36°C não foram diferentes significativamente do controle onde foram mantidas a 27°C.

Os melhores resultados de masculinização por temperatura são encontrados em temperaturas acima de 38,5°C, mas estas altas temperaturas, além do alto custo, geram uma alta mortalidade o que inviabiliza o uso desta técnica a não ser após a seleção das estirpes mais termossensíveis (BARAS et al., 2001)

1.4.3. Ração com hormônio

Até a década de 80 a reversão de tilápia era feita em águas limpas para reduzir possíveis interferências de alimentos naturais, contudo, desde 1984, pesquisadores e produtores de diversos países tem demonstrado que a tilápia pode ser revertida em hapas mantidas em viveiros com abundância de plâncton natural pois, nestas condições o peixe cresce mais rápido, apresentam resistência a doenças e reduz os gastos com infraestrutura (POPMA & GREEN, 1990).

A oferta de ração com hormônio é o manejo mais comum hoje no Brasil, para obtenção de plantéis masculinizados. Neste método a reversão sexual é realizada pela adição de 30 a 60 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração em pó que é fornecida após a eclosão dos ovos e tem duração de 28 dias (KUBITZA, 2000). Segundo Mainardes-Pinto et al. (2000), este método pode produzir até 98% de indivíduos machos quando realizado por 30 dias com oferecimento de alimento de no mínimo 6 vezes ao dia.

Vários estudos foram conduzidos no intuito de se encontrar o melhor protocolo para este tipo de manejo, Hiott & Phelps (1993), ofereceram 60mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração durante 28 dias e obtiveram 95,7% de indivíduos machos; Blázquez et al., (1995) ofereceram 10 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração durante 100 dias e obtiveram 100% de indivíduos machos; Mainardes-Pinto et al., 2000 encontraram 92% de machos para tilápias alimentadas com 30mg de 17- α -metiltestosterona por 45 dias; Tachibana et al., 2004 encontraram de 65,8 a 100% de machos para 4 diferentes linhagens de tilápias utilizando 60mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração durante 30 dias ; Sousa, (2010) encontrou 100% de indivíduos machos ofertando 60 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma

de ração durante 14 dias com o auxílio de alimentação automática; Oliveira, (2010) encontrou 100% de indivíduos machos ofertando 60 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração durante 14 dias com o auxílio de alimentação automática. Estudos específicos para cada linhagem de tilápias são necessários para montagem de um protocolo de reversão sexual (TACHIBANA et al., 2004).

1.5. Danos causados por hormônios

No Brasil, o manejo mais comum para a obtenção de plantéis masculinizados de tilápia é a oferta de ração com hormônio para as larvas recém-eclodidas. O hormônio geralmente utilizado é a 17- α -metiltestosterona (KUBITZA, 2000). A 17- α -metiltestosterona é um esteroide andrógeno e o seu uso vem sendo criticado por consumidores e ecologistas devido aos possíveis danos aos peixes, ao meio ambiente e aos consumidores (OLIVEIRA et al., 2007). Rothbard et al. (1990); Curtis et al. (1991); Zanardi et al. (2011), relataram em seus trabalhos sobre a capacidade dos animais de excretarem o excesso de hormônios.

Alguns autores avaliaram a presença de hormônio na água de sistemas fechados de criação de populações monossexo de tilápias; na água e no substrato de lagoas que recebem esgotos de cidades; e no substrato dos tanques escavados utilizados na reversão sexual. Foram encontrados 11,3 ng de hormônio/ml na água dos sistemas fechados, durante o processo de reversão sexual (HULAK et al., 2008); nas lagoas que receberam esgotos de cidades até 273 ng de hormônio/ml de água (BUSCH, 2009); e em tanques escavados usados para a reversão sexual, foram encontrados valores médios de 0,691 ng/g para o substrato e 0,0068 ng/ml na água (CONTRERAS-SANCHEZ et al., 2001). Segundo Busch (2009), uma mulher em condições normais pode excretar altas quantidades de hormônio (2000 a 20000 ng de estrona/dia, 3000 a 65000 ng de estiol/dia e 300 a 5000 ng estradiol/dia) e em uma mulher grávida estes valores podem ser até 1000 vezes maiores.

Alguns estudos realizados em tilápias mostram que quanto menor o tempo de exposição e as quantidades de hormônios ingeridos pelos peixes, menores são os danos. Algumas alterações no fígado de tilápias podem ocorrer em consequência das quantidades de 17- α -metiltestosterona na dieta. Gayão (2009) sugere o uso de 30 mg 17- α -

metiltestosterona na reversão sexual, pois os animais alimentados por 30 dias com 30 mg de deste hormônio por quilograma de ração não apresentaram lesões hepáticas relevantes.

Kefi et al. (2013), avaliaram o efeito de diferentes doses de 17- α -metiltestosterona (40, 60 e 90 mg/kg⁻¹ por 21 dias) em larvas *Oreochromis andersonii*. Os autores observaram que a histopatologia do fígado e coração não apresentaram diferença significativas dos animais provenientes do tratamento controle. A segurança da utilização da 17- α -metiltestosterona para *Oreochromis andersonii* foi demonstrada nas condições deste experimento, entretanto, há sinais de condições de deterioração hepática nas concentrações mais altas de 17- α -metiltestosterona, com a redução do crescimento e anemia.

Quando o hormônio é utilizado em sistemas fechados, a quantidade residual de hormônios pode afetar a próxima população de peixe criada no mesmo local (CONTRERAS-SANCHEZ et al., 2001). Hulak et al. (2008) mantiveram populações de carpas em sistema fechado, alimentadas com ração misturadas com hormônio (100 mg/kg⁻¹) e o grupo controle sem hormônio. O efeito residual do 17- α -metiltestosterona na água foi constatado pela presença de 68 a 100 % de indivíduos machos no tratamento sem hormônio. Resultados semelhantes foram descritos por Budworth and Senger (1993), quando aplicaram testosterona em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e o excesso de hormônio excretado por estes animais afetaram os outros animais do sistema fechado.

Segundo Zanardi et al. (2011), a reversão sexual de tilápias pela administração de metiltestosterona via oral ou banho de imersão, podem ser considerados métodos seguros por não trazerem riscos à saúde dos consumidores, pois os peixes têm a capacidade de excretar de forma rápida estes hormônios exógenos. Tilápias submetidas à reversão sexual mostram uma rápida diminuição da 17- α -metiltestosterona no músculo, sendo 90% do hormônio marcado, eliminado em menos de 24 horas e menos de 1% representando 5 ngMT.g⁻¹ de tecido, pôde ser detectado em 21 dias após o final do tratamento (GOUDIE et al., 1986).

A reversão sexual de tilápias pela ingestão de ração com 17- α -metiltestosterona, pode ser considerado um método seguro desde que seja iniciado logo após as larvas começarem a ingerir alimentos, seja usado no máximo 60mg do hormônio por quilo de ração, sejam abatidas no mínimo cinco meses após o final da reversão para que não

tenham resíduos na carne e que os funcionários utilizem de luvas e máscaras quando forem manusear a ração com hormônio (Khalil, 2011)

1.6. Manejo alimentar

A taxa de alimentação, a frequência de arraçoamento e a utilização de alimentos de qualidade são indispensáveis para o sucesso da aquicultura, pois tanto excessos como falta de alimento influenciam diretamente no desenvolvimento dos animais e na qualidade da água (CASTRO, 2010).

A partir do momento que as pisciculturas brasileiras crescem, aumenta-se a necessidade de mão de obra especializada. A alimentação é o ponto mais importante quando se fala em custos, ela representa 83% do custo operacional efetivo (SABBAG et al., 2007). A alimentação automática melhora a eficiência alimentar, pois segundo Oliveira (2010) o aumento no número de refeições e a possibilidade de fornecimento de ração a noite pode melhorar o desempenho produtivo.

Quando um maior número de refeições é fornecido aos peixes, a porção diária pode ser dividida em pequenas quantidades, mantendo a qualidade da ração, diminuindo o efeito de dominância das tilápias maiores, mantendo lotes mais uniformes (SOUSA, 2010) e melhora o desempenho dos reprodutores (RIBEIRO, 2012). Este manejo alimentar reduz a necessidade de classificação em peixes criados em tanque-rede devido à uniformidade dos planteis (SOUSA, 2007).

As pisciculturas comerciais que fazem a masculinização de larvas de tilápia oferecem ração apenas durante o dia, fazendo com que as larvas tenham um suprimento de hormônio apenas neste período. Com a alimentação automática é possível o fornecimento de alimento no período noturno ou fora do horário de trabalho dos funcionários (SOUSA, 2007). O aumento na frequência alimentar pode tornar a masculinização mais eficiente, pois ela promove um constante suprimento de hormônio no sangue, fazendo com que este hormônio permaneça na corrente sanguínea por mais tempo (MEURER, 2012).

Segundo Berestinas (2006), para maximizar o desempenho produtivo de peixes, com melhor retorno financeiro e menor impacto ambiental, é de suma importância o uso de dietas balanceadas e número de refeições adequado para cada espécie.

O manejo alimentar durante a reversão sexual de tilápia foi avaliado por Sousa (2010), que comparou duas frequências alimentares 6 e 24 refeições que recebiam 200% do peso vivo em ração e verificou os melhores resultados de reversão sexual e de ganho de peso da larva na maior frequência alimentar demonstrando a importância do maior fracionamento da porção diária durante o período de tratamento hormonal.

1.7. Automação do manejo alimentar

Nos países onde a aquicultura opera em nível industrial, a automação da alimentação possibilita o aumento da frequência alimentar e a possibilidade de fornecimento de ração no período noturno, esta prática não é inviável em pisciculturas comerciais onde a alimentação é feita de forma manual, devido ao custo da mão de obra. (KUNNI, 2010)

O método de oferecimento de ração manual é o mais utilizado no Brasil, onde os funcionários se baseiam em uma tabela semanal de oferta de ração o que pode sub ou superestimar a quantidade de ração ofertada. Na tentativa de evitar perdas e melhorar o aproveitamento dos alimentos cada vez mais as pisciculturas tem investido em mão de obra especializada e novas tecnologias. Os principais motivos deste investimento foram o rápido desenvolvimento da aquicultura, os problemas identificados pelos produtores que necessitam de soluções tecnológicas e o desenvolvimento de hardwares e softwares (ZION, 2012).

Agostinho et al. (2015), desenvolveram o software “Aqui-o-matic®”, o qual reajusta a oferta de ração diariamente de acordo com o ganho diário estimado com base na conversão alimentar esperada. O software pode ser utilizado para controlar alimentadores automáticos em pisciculturas comerciais por meio de um controlador lógico programável (CLP).

Os CLPs foram criados pela indústria automobilística em 1960, nos Estados Unidos da América, como uma ferramenta de controle com capacidade de ajustes rápidos e que trabalhava basicamente com qualquer tipo de sinal, podendo controlar processos sejam eles digitais ou analógicos (SOUSA, 2004). De modo simplificado, podemos dizer que o CLP age como o cérebro da automação, por meio de algoritmos lógicos implantados

pelo software ele controla os processos que deverão ser realizados pelos alimentadores automáticos (SILVA, 2011).

O uso de alimentação automática reduz a necessidade de mão de obra no arraçoamento em pisciculturas (PAPANDROULAKIS, 2002), reduzindo as lesões por esforço repetitivo dos tratadores (ROSÁRIO, 2009), aumenta a precisão da oferta de ração, portanto diminuindo os gastos com ração (SOUSA, 2010) e aumentando a eficiência da reversão sexual (SOUSA, 2010; OLIVEIRA, 2010).

Com o uso de alimentadores automáticos, Oliveira (2010) realizou um experimento com larvas durante o período de reversão sexual utilizando 60 mg do hormônio 17- α -metiltestosterona por quilo de ração, frequências de 24, 32, 48 e 96 refeições ao dia e noite e ofertando uma taxa alimentar de 250% do peso vivo em ração. Analisando o desempenho produtivo e a reversão sexual, o autor obteve os melhores resultados quando os peixes foram alimentados com 48 refeições durante dia e noite, a reversão sexual obteve os melhores resultados aos 14 dias de tratamento hormonal obtendo 100% de indivíduos machos.

Diante do exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a reversão sexual quando o hormônio é oferecido em três taxas de arraçoamento (superior, média e inferior) com tratamento hormonal durante sete dias e 14 dias. O controle da oferta de ração foi realizado por meio de automação no manejo alimentar com controlador lógico programável.

Com base neste estudo será apresentado no Capítulo II o artigo intitulado “Reversão sexual de tilápias criadas em hapas e submetidas a diferentes taxas de alimentação em alta frequência”, que se apresenta de acordo com as normas para publicação na Aquaculture Research.

1.8. Referências Bibliográficas

AGOSTINHO, C. A. et al. **Aqui o Matic: Programa para a automação do fornecimento de ração para peixes e rãs com base nas variações da temperatura da água, no oxigênio dissolvido e no ganho diário de peso estimado com base na conversão esperada.** Registro de programa INPI. 2015.

AGOSTINHO, C.A. et al. **Alimentador automático para peixes e organismos aquáticos em geral. Brasil.** PI10055363, 03 dez. 2010. INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

AZAZA, M. S.; DHRAIEF, M. N.; KRAIEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of thermal Biology**, v. 33, n. 2, p. 98-105, 2008.

BARAS, E.; JACOBS, B.; MÉLARD, C. Effects of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX - XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v. 1/2, n. 142, p. 187-199, 2001.

BAROILLER, J.-F.; GUIGUEN, Y.; FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 55, n. 6-7, p. 910-931, 1999.

BEARDMORE, J. A.; MAIR, G. C.; LEWIS, R. I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. **Aquaculture**, v. 197, n. 1, p. 283-301, 2001.

BERESTINAS, A.C. **Efeito de diferentes rações comerciais e frequências alimentares no crescimento de juvenis de robalo-peva, *Centropomus parallelus poey*, 1860.** 2006. 19f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Estadual de Santa Catarina, 2006.

BILLY, A.J.; LILEY, N.R. The effects of early and late androgen treatments on the behavior of *Sarotherodon mossambicus* (Pisces: Cichlidae). **Hormones and Behavior**. v. 19, n. 3, p. 311-330, 1985.

BLÁZQUEZ, M.; PIFERRER, F.; ZANUY, S. et al. Development of Sex control techniques for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) aquaculture: effects of dietary 17 α - metiltestosterone prior to sex differentiation. **Aquaculture**. v. 135, p. 329-342, 1995.

BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C. Masculinization of larvae of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by immersion baths with alpha-methyltestosterone. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 365-372, 2005.

BUDWORTH, P.R. SENGGER, P.L. Fish-to-fish testosterone transfer in a recirculating-water system. **Progressive Fish-Culturist**. n. 55, pp. 250–254. 1993.

BUSCH, O. M. S. **Qualidade da água e saúde humana: riscos potenciais face ao processo de ocupação urbana no entorno da Represa do Passaúna-Curitiba-PR**. 2009. 261f. Dissertação (Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento). Universidade Federal do Paraná. 2009.

DE CASTRO, C. S. **Taxas e frequências de alimentação na produção de rã-touro em baias inundadas**. 2010. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2010.

CONTRERAS-SANCHEZ, W. M.; FITZPATRICK, M. S.; SCHRECK, C. B. Fate of methyltestosterone in the pond environment: detection of 17- α -metiltestosterona in pond soil from a CRSP site. **Eighteenth Annual Technical Report**. p. 79-82, 2001.

CURTIS, L.R.; DIREN, F.T.; HURLEY, M.D.; SEIM, W.K.; TUBB, R.A. Disposition and elimination of 17 α -methyltestosterone in Nile tilapia. **Aquaculture**. v. 99, p. 193-201, 1991.

DE CASTRO, C. S.; ARGENTIM, D.; NOVELLI, P. K.; COSTA, J. M.; MENEZES, C. S. M.; NETO, A.C.; VIEIRA, J. C. de S.; PADILHA, P. de M.; AGOSTINHO, C. A. Feed digestibility and productive performance of bullfrogs raised in cages and fed in different periods and high frequency. **Aquaculture**. v. 433, p. 1-5, 2014.

DEVLIN, R. H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**. v. 208, n. 3/4, p. 191-364, 2002.

FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. The State of World Fisheries and Aquaculture, 2010. Disponível em: < <http://www.fao.org/fishery/facp/BRA/en> >. Acesso em: fev. 2015.

FOSTIER, A.; JALABERT, R.; BILLARD, R.; BRETON, B.; ZOHAR, Y. The gonadal steroids. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (Ed.). **Fish physiology**. p. 277-371, 1983.

GALE, W. L.; FITZPATRICK, M. S.; LUCERO, M.; CONTRERAS-SANCHEZ, W. M.; SCHRECK, C. B. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. **Aquaculture**. v. 178, n. 1 p. 349-357, 1999.

GAYÃO, A. L. B. de A. **Nutrição e reversão sexual de tilápia do Nilo: parâmetros produtivos e estrutura do fígado**. 2009. 100f. Dissertação (Doutorado em aquicultura). Centro de Aquicultura da UNESP. Câmpus de Jaboticabal. 2009

GITHUKIA, C. M.; OGELLO, E. O.; KEMBENYA, E. M.; ACHIENG, A. O.; OBIERO, K. O.; MUNGUTI, J. M. Comparative growth performance of male monosex and mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Reared in earthen ponds. **Croatian Journal of Fisheries**. p. 42-53. 2015.

GOUDIE, C. A., SHELTON, W. L., & PARKER, N. C. Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to adult blue tilapia. **Aquaculture**, v. 58, n. 3, p. 227-240, 1986.

GUPTA, M. V.; ACOSTA, B. O. From drawing board to dining table: The success story of the GIFT Project. NAGA, **WorldFish Center Quarterly**, v. 27 n. 3 – 4. 2004.

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

HISHIDA, T. Accumulation of estrone-16-C¹⁴ and diethylstilbestrol (Monoethyl-1-C¹⁴) in larval gonads of the medaka, *Oryzias latipes* and determination of the minimum dosage of estrogen for sex reversal. **General and Comparative Endocrinology**. v. 5, p. 137-144. 1965.

HULAK, M. et al. A quantitative study of testicular germ cell populations in masculinized neomale common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Cell biology international**. v. 32, n. 5, p. 515-524, 2008.

JÚNIOR, E. L.; VARGAS, L. POVH, J. A.; RIBEIRO, P. R.; MANGOLIN, C. A.; BARRERO, N. M. L. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 30, n. 2, p. 233-240, 2008.

KEFI, A.S.; KANG'OMBE, J.; KASSAM, D.; KATONGO, C. Effect of 17 α -Methyl Testosterone on Haematology and Histology of Liver and Heart of *Oreochromis andersonii* (Castelnau, 1861). **Journal of Marine Science: Research & Development**. v. 3, p. 3, 2013.

KHALIL, W. K. B.; HASHEESH, W. S.; MARIE, M. A. S.; ABBAS, H. H.; ZAHRAN, E. A. Assessment the impact of 17 α -methyltestosterone hormone on growth, hormone concentration, molecular and histopathological changes in muscles and testis of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. **Life Science Journal**, v. 8, n. 3, p. 329-343, 2011.

KUBITZA, F. **Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000. 289p.

KUNNI, E. M. F. **Frequência alimentar e taxa de alimentação para kinguio criado em hapa: desempenho produtivo e avaliação econômica**. 2010, 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2010.

MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FENERICH-VERANI, N.; DE CAMPOS, B. E. S.; DA SILVA, A. L. Masculinização da tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 a-metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 654-659, 2000.

MEURER, F.; BOMBARDELLI, R. A.; PAIXÃO, P. S. D.; SILVA, L. C. R. D.; SANTOS, L. D. D. Feeding frequency on growth and male percentage during sexual reversion phase of Nile tilapia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p. 1133-1142, 2012.

MOREIRA, R. L.; MARTINS, R. R. de O. M.; FARIAS, W. R. L. F. Utilização de spirulina platensis como suplemento alimentar durante a reversão sexual da tilápia-do-nilo (var. Chitralada) em água salina. **Ciência Animal Brasileira**. v.12, n.1, p. 76-82, 2011.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Balança comercial do pescado 2009. Disponível em:

<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/Balan%C3%A7a%20Comercial%20do%20Pescado%202009.doc> Acesso em: Fevereiro. 2015.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010. Brasília. p. 128. 2010

MPA. 1º. Anuário brasileiro da pesca e aquicultura - Brasil 2014. Disponível em: <http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/16061/2489520_218117.pdf>. Acesso em: dez. 2014.

MPA. Produção brasileira – Brasil 2014. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/aquicultura/producao>>. Acesso em: jun. 2015.

OLIVEIRA, L. C. **Altas frequências de arraçoamento nas fases iniciais da criação de tilápias em hapas**. 2010, 73f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2010.

OLIVEIRA, S. N.; RIBEIRO, R. P.; LOPERA, N. M.; CANDIOTO, F. B.; RESENDE, E. K.; LEGAT, A. P. Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 2, p. 207-212, 2011.

OLIVEIRA. L.C. 2013 <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2386> visto em 02/02/2015.

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

PAPANDROULAKIS, N. et al. An automated feeding system for intensive hatcheries. **Aquacultural Engineering**, v. 26, p. 13-26, 2002.

PEZZATO, L. E.; PACKER, I. U.; FORESTI, F.; FURLAN, L. R. Ação de hormônios sexuais sobre larvas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão

sexual, mortalidade e frequência de reversão. **V-SIMBRAQ – Simpósio Brasileiro De Aquicultura**. p. 63 – 69, 1986.

PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture**. v. 197, n. 1, p. 229-281, 2001.

PIFERRER, F.; DONALDSON, E. M. Gonadal differentiation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, after a single treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis. **Aquaculture**. v. 77, n. 2, p. 251-262, 1989.

PEÑA-MENDOZA, B. et al. Reproductive biology of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) at Emiliano Zapata dam, Morelos, Mexico. **Revista de biologia tropical**. v. 53, n. 3-4, p. 515-522, 2005

POPMA, T. J.; GREEN, B. W. Reversão sexual de tilápias em tanques de terra. In: **Manual de produção em aquicultura**. p. 52, 1990.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. L. World prospects for commercial production tilapia. **Research and Development Series**. n. 41, 1996.

RAKOCY, J. E.; MCGINTY, A. S. Pound culture of tilápia, Auburn: the Alabama cooperative service. **Auburn university**. p. 280, 1990.

RIBEIRO, R. R. **Frequência alimentar e níveis de proteína no desempenho e na primeira maturação sexual em Rhamdia quelen criados em tanque-rede**. 2012. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2010.

RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília/DF: Embrapa. 2013.

ROSARIO, J. M.; **Automação industrial**. São Paulo: Brauná. 2009.

ROTHBARD, S.; ZOHAR, Y.; ZMORA, N.; SIVAN, B.L.; MOAV, B. & YARON, Z. Clearance of 17- α -ethynyltestosterone from muscle of sex-inversed tilapia hybrids treated for growth enhancement with two doses of the androgen. **Aquaculture**, n. 89, p. 365-376. 1990.

SABBAG, O. J., ROZALES, R. D. R., TARSITANO, M. A. A., & SILVEIRA, A. N. Análise econômica da produção de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em um modelo de propriedade associativista em Ilha Solteira/SP. **Custos e @gronegocio online**. v. 3, n. 2. 2007.

SANTOS, V. B.; YOSHIHARA, E.; DE FREITAS R. T. F.; NETO, R. V. R. Exponential growth model of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains considering heteroscedastic variance. **Aquaculture**, n. 274, 96-100. 2008.

SILVA, C. O controlador lógico programável. 2011. www.clubedaeletronica.com.br
Acesso em Janeiro 2015.

SOUSA, M. A. B. **Estudo comparativo entre a aplicação de sistemas dedicados e a utilização de controladores lógico programáveis na automação de sistemas prediais**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2004.

SOUSA, R. M. R. **Frequência alimentar para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nas fases de reversão e pós-reversão sexual**. 2010, 55f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2010.

SOUSA, R. M. R. **Qualidade da água e desempenho produtivo da tilápia do Nilo alimentada em diferentes frequências e períodos por meio de dispensador**

automático. 2007. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2007.

SPECKER, J. L.; CHANDLEE, M. K. Methodology for estradiol treatment in marine larval and juvenile fish: uptake and clearance in summer flounder. **Aquaculture**. v. 217, n. 1, p. 663-672, 2003.

SUGANUMA, C. H. **Caracterização de estoque de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) através do uso de microsatélites**. 2004. 46f. Dissertação (Mestrado). Centro de Aquicultura. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2004.

TACHIBANA, L.; CASTAGNOLLI, N.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; VALLE, J. B.; SIQUEIRA, M. R. Desempenho de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) na fase de reversão sexual. **Acta scientiarum, Animal sciences**. v. 26, n. 3, p. 305-311, 2004.

TOGUYENI, A.; FAUCONNEAU, B.; BOUJARD, T.; FOSTIER, A.; KUHN, E. R.; MOL, K. A.; BAROILLER, J. F. Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus*: effect of sex ratio and relationship with the endocrine status. **Physiology & behavior**. v. 62, n. 2, p. 273-279, 1997.

VARADARAJ, K.; PANDIAN, T.J. Effect of solvent on sex reversing potency of 17a-ethynyltestosterone on *Oreochromis mossambicus*. **Progressive Fish-Culturist**. n. 53, p. 67-71. 1991.

YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: Hoar, W., Randall, D. (Eds.), Fish Physiology. **Academic Press**. p. 117–175, 1969.

ZANARDI, M. F.; DIAS KOBERSTEIN, T. C. R.; URBINATI, E. C.; FAGUNDES, M.; SANTOS, M. D.; MATAQUEIRO, M. I. Concentrações de hormônio na carcaça de tilápias-do-nilo e maturação precoce após reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, n. 1, p. 7-11, 2011.

ZANARDI, Y. M. F.; DIAS-KOBERSTEIN, T. C. R.; DOS SANTOS, M. A. Comparação entre métodos de reversão sexual de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), variedade Chitralada. In: **AquaCiências**. 2006: 2006, Bento Gonçalves - RS, Anais. CD-ROOM.

ZION, B. The use of computer vision technologies in aquaculture – A review. Computers and Electronics. **Agriculture**. v. 88, p. 125-132, 2012.

CAPITULO II
ALIMENTAÇÃO AUTOMÁTICA EM ALTA FREQUÊNCIA E DIMINUIÇÃO
DO TEMPO DE REVERSÃO SEXUAL DE LARVAS DE TILÁPIAS

Reversão sexual de tilápias GIFT criadas em hapas e submetidas a diferentes taxas de alimentação em alta frequência

RESUMO: O presente estudo foi realizado na primeira quinzena do mês de abril de 2013 com o objetivo de avaliar diferentes taxas de alimentação em alta frequência com alimentação continua (diurna e noturna) na reversão sexual de larvas de tilápias da linhagem GIFT recém eclodidas, alimentadas com ração comercial com 30 mg de 17- α -metiltestosterona/kg⁻¹. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos, um grupo controle e quatro repetições. Os tratamentos consistiam em três taxas de alimentação sendo elas: superior, médio e inferior. Na primeira semana as taxas foram de 250, 200 e 150% da biomassa para cada tratamento e na segunda semana estes valores foram reduzidos para 200, 150 e 100% respectivamente, o grupo controle recebia 185% do peso vivo em ração, sem adição de hormônio durante todo o período. As larvas com peso inicial de 0,021 $\pm$ 0,01g foram distribuídas na densidade de 1000 larvas por hapa de 343 litros. A ração foi fornecida por alimentadores automáticos de 30 em 30 minutos de acordo com o tratamento e ajustada diariamente por Controlador Lógico Programável (CLP). Os resultados da reversão sexual não diferiram estatisticamente entre si dentro dos tratamentos, exceto no grupo controle que diferenciou de todos os outros. As porcentagens de machos aos sete dias foram 94,6, 97,6 e 96,6% para os tratamentos superior, médio e inferior respectivamente. A automação do fornecimento de ração é uma alternativa para a diminuição da quantidade de hormônio dispensada, pois a redução do período de reversão para sete dias devido à alta frequência e alimentação continua (diurna e noturna) evita o fornecimento de ração com hormônio dos sete aos 14 dias podendo ser uma possível substituta da técnica convencional praticada em pisciculturas comerciais.

Palavras chave: Taxa de alimentação, *Oreochromis niloticus*, larvicultura, reversão sexual.

Sex reversal of tilapia GIFT raised in hapas and submitted to different feed rates for high frequency

ABSTRACT: This study was conducted in the first fortnight of April 2013 in order to evaluate different feed rates for high frequency power continues (day and night) in the sex reversal of tilapia larvae newly hatched GIFT strain, fed with commercial feed with 30 mg of 17- α -methyltestosterone / kg-1. The experimental design was completely randomized with three treatments, a control group and four replications. The treatments consisted of three power rates which are: upper, middle and lower. In the first week the rates were 250, 200 and 150% of the biomass for each treatment and the second week these figures were reduced to 200, 150 and 100% respectively, the control group received 185% of body weight in feed without adding hormone throughout the period. The larvae with initial weight of 0.021 ± 0.01 g were distributed in the density of 1,000 larvae per hapa of 343 liters. The ration was provided by automatic feeders 30 in 30 minutes according to the treatment and adjusted daily for Programmable Logic Controller (PLC). The results of sex reversal did not differ among themselves within the processed than in the control group differed from all others. The percentages of males to the seven days were 94.6, 97.6 and 96.6% for the top treatments, middle and bottom respectively. The automation of feeding is an alternative for decreasing the amount of hormone dispensed, since reducing the reversal period for seven days due to the high frequency power continues (day and night) prevents the supply of feed hormone with from seven to 14 days and may be a possible replacement for the conventional technique practiced in commercial fish farms.

Keywords: feed rate, *Oreochromis niloticus*, larvae, sex reversal.

Introdução

A tilápia é responsável pelo crescimento da aquicultura no Brasil, por ser um peixe de maturação sexual precoce e alta prolificidade. Uma das principais linhagens de tilápia criada no Brasil é a linhagem GIFT (Genetically Improved Farmed Tilápia), desenvolvida em 1998 pela World Fish Center por meio de cruzamentos sucessivos entre quatro espécies de *Oreochromis niloticus* selvagens da África e quatro espécies cultivadas na Ásia, sendo selecionadas para características produtivas pré-definidas (GUPTA & ACOSTA, 2004). Esta linhagem, tem sido selecionada para ganho de peso ao longo dos anos, estima-se que por meio da seleção genética o ganho de peso para cada geração possa alcançar 4% sobre a geração anterior (OLIVEIRA, 2013). O melhor desempenho produtivo da GIFT, se deve ao fato das larvas serem 15 a 20% maiores e apresentarem maturação sexual tardia quando comparada a outras linhagens como a Chitralada, mobilizando menos nutrientes para esta maturação (KUBITZA, 2000). Por outro lado, animais selecionados geneticamente tendem a ter suas exigências nutricionais aumentadas para que expressem todo o seu potencial (PAPANDROULAKIS, 2002).

As técnicas reversão sexual tiveram uma importância fundamental para a evolução da tilapicultura, pois a produção de plantéis monossexo macho impede a reprodução indesejada e os machos apresentam taxa de crescimento específico maior do que as fêmeas (GITHUKIA et al., 2015). Além disso, a criação de monossexo reduz os riscos de impacto ambiental caso ocorram fugas (BEARDMORE et al., 2001). O método de reversão sexual por meio do fornecimento de ração com 17- α -metiltestosterona por 30 dias é uma prática convencional. Zanardi (2011) obteve lotes com 94% de indivíduos machos, administrando 60 mg hormônio por kg de ração durante 30 dias.

O sucesso da reversão sexual está relacionado à quantidade de hormônio que é realmente ingerido por cada peixe durante o período de diferenciação sexual. É importante considerar a dose de hormônio para evitar problemas relacionados a overdoses que podem levar a esterilidade ou efeito paradoxal, devido à aromatização de andrógenos para estrógenos, mas deve-se evitar subdoses que podem resultar em intersexo (EL-GREISY & EL-GAMAL, 2012).

O uso de alta frequência alimentar durante o dia e a noite pode proporcionar a redução do tempo de fornecimento de hormônio e a diminuição da concentração de

hormônio por kg^{-1} de ração. A automação do manejo alimentar pode proporcionar maior precisão na oferta de ração, permite que a porção diária seja dividida em várias refeições além de possibilitar a alimentação noturna, disponibilizando o hormônio em todo o período lábil de diferenciação sexual (LEKANG, 2007);

Dentro da cadeia produtiva a substituição do arraçoamento manual pela alimentação automática proporciona aumento da eficiência alimentar (SOUSA et al. 2012), do retorno financeiro por evitar desperdício de ração ou lixiviação, reduz as lesões por esforço repetitivo dos tratadores (ROSÁRIO, 2009) bem como o risco do contato diário com ração contendo hormônio masculinizante, que pode causar danos a sua saúde.

Neste trabalho a influência das diferentes taxas de alimentação fornecidas em alta frequência alimentar durante o dia e a noite; e do número de dias necessário para a reversão sexual foi avaliada para pós-larvas de tilápia mantidas em hapas.

Materiais e Métodos

O presente experimento foi realizado na primeira quinzena do mês de na piscicultura Pescados Vitoreli, localizado na represa do Rio Paranapanema no município de Euclides da Cunha Paulista-SP.

O plantel de animais era formado por 16000 pós-larvas de tilápia da linhagem GIFT (G3) recém-eclodidas com comprimento e peso médio de $10,5 \text{ mm} \pm 0,13$ e $0,021 \text{ g} \pm 0,01$, respectivamente. As larvas foram distribuídas aleatoriamente em 16 hapas de $0,34 \text{ m}^3$ (malha de 1 mm), contendo 1,000 indivíduos em cada uma. Cada hapa era considerada uma unidade experimental e foi fixada dentro de um tanque rede de 18 m^3 , com espaçamento de aproximadamente um metro entre os tanques.

Os equipamentos para o controle da oferta de alimento foram instalados na margem da represa a 100 metros de distância das hapas e sua comunicação com os alimentadores automáticos foi feita por meio de cabos. A quantidade de ração fornecida em cada tratamento era controlada por meio do software “Aqui-o-matic®” instalado no CLP que ajustava a quantidade de alimento dispensada pelo alimentador automático de acordo a taxa de alimentação programada.

Um transmissor de oxigênio e temperatura “Mettler Toledo®” foi instalado próximo as hapas, e o sensor colocado a 1 metro de profundidade, fazendo a leitura dos parâmetros da água e enviado ao CLP por meio de cabos, para a gravação dos dados de meia em meia hora.

O hormônio 17- α -metiltestosterona foi incorporado na ração comercial na concentração de 30 mg/kg⁻¹ de ração. De acordo com o fabricante a composição da ração comercial apresentava: umidade (máx.) 10%, Proteína Bruta (mín.) 55%, Extrato Etéreo (mín.) 4%, Matéria Fibrosa (máx.) 6%, Matéria Mineral (máx.) 18%, Cálcio (máx.) 5%, Fósforo (mín.) 1,5%. A ração foi fornecida a cada trinta minutos durante o dia e a noite.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos, um grupo controle e quatro repetições. Os tratamentos consistiam em três taxas de alimentação sendo elas: superior, médio e inferior. Na primeira semana as taxas foram de 250, 200 e 150% da biomassa para cada tratamento e na segunda semana estes valores foram reduzidos para 200, 150 e 100% respectivamente. O grupo controle recebia 185% do peso vivo em ração, sem adição de hormônio durante todo o período.

A curva de crescimento foi estimada com os dados de peso e do comprimento de uma amostra de dez larvas de cada hapa. Para avaliar a porcentagem de reversão sexual uma amostra de 100 animais de cada hapa foi transferida separadamente para hapas distribuídas em um viveiro de 2000 m² no Setor de Aquicultura da UNESP em Botucatu e alimentadas manualmente com ração sem hormônio por 60 dias. Após este período, as larvas com aproximadamente de 2 gramas foram fixadas em solução de formaldeído a 10% por 72 horas, posteriormente fixados e mantidos em álcool etílico 70%. As gônadas foram retiradas por meio de uma incisão ventral da cavidade celomática, colocadas sobre lâminas e coradas com acetato carmim a 45%, coberta com uma lamínula e examinadas ao microscópio ótico com aumento de 40x. A reversão sexual foi visualizada por: (a) presença de ovócitos nas gônadas indicando uma fêmea; (b) gônadas sem ovócitos e com aparência granular indicam um exemplar macho, e (c) gônadas que apresentam alguns ovócitos espalhados ou áreas com ovócito, sendo o restante da gônada de aparência granular indicam os indivíduos intersexo (Kubitza, 2000).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software MiniTab, onde os dados foram submetidos ao teste de Chi-square (χ^2) para as porcentagens de machos e fêmeas ao nível de 5% de significância.

Resultados

Os parâmetros de qualidade da água se apresentaram dentro dos limites recomendados para produção de tilápias, com médias de oxigênio dissolvido de 5,4 mg/L¹, temperatura mínima 24,3°C, temperatura máxima 26,8°C e com média de 25,2°C. As porcentagens de machos e fêmeas e as diferenças estatísticas de cada tratamento serão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores das porcentagens de machos e fêmeas para cada tratamento em 7 e 14 dias. Taxas de alimentação: superior (250%/7 dias e 200%/14 dias), media (200%/7 dias e 150%/14 dias) e inferior (150%/7 dias e 100%/14 dias).

Período	Sexo	Taxas de alimentação			
		Superior	Média	Inferior	Controle
7 dias	Macho	94,6 ^{aA}	97,1 ^{aA}	96,6 ^{aA}	72,2 ^{bA}
	Fêmea	5,4	2,9	3,4	27,8
14 dias	Macho	97,4 ^{aA}	100 ^{aA}	97,5 ^{aA}	72,2 ^{bA}
	Fêmea	2,6	0	2,5	27,8

Porcentagens seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente ($p>0,05$) entre si nas linhas.

Porcentagens seguidas de mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente ($p>0,05$) entre si nas colunas.

Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$), entre os tratamentos dentro de um mesmo período exceto quando comparados com o grupo controle.

Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$), entre os períodos dentro de um mesmo tratamento.

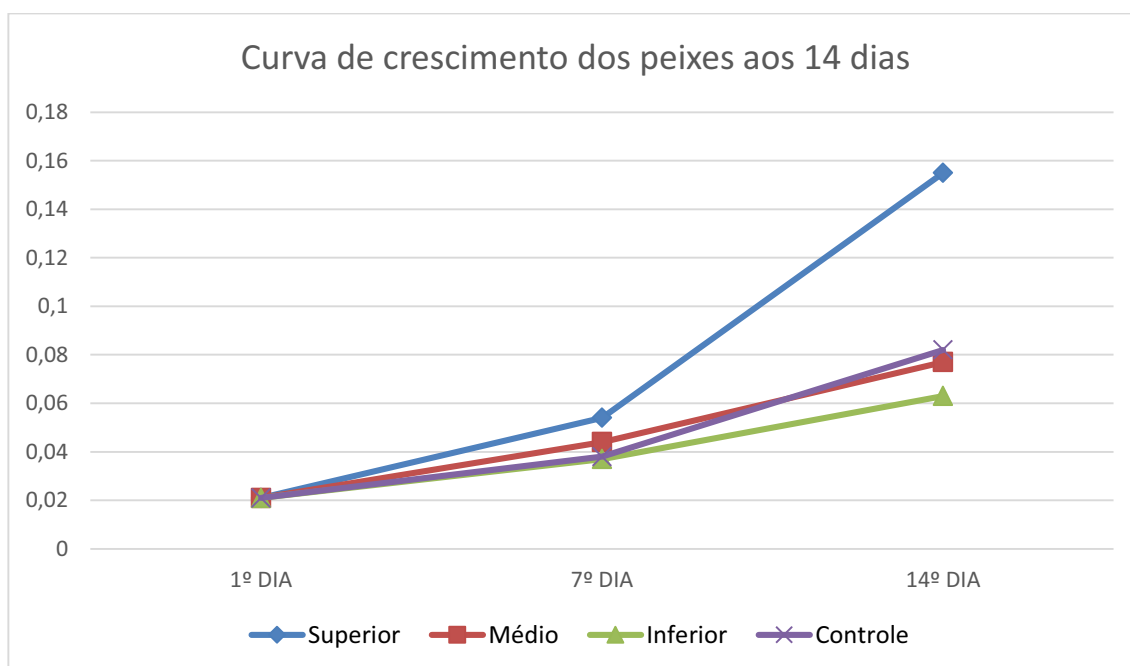
Os gastos com ração e hormônio para cada 1000 larvas por tratamento são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de ração e quantidade de hormônio gastos em cada tratamento, para cada 1000 larvas.

	1º ao 7º dia		8º ao 14º dia	
	Gasto de Ração (g)	Hormônio dispensado (mg)	Gastos de Ração (g)	Hormônio dispensado (mg)
Superior	124	3,7	377	11
Médio	110	3,3	330	10
Inferior	101	3,0	252	8
Controle	103	-	309	-

A curva de crescimento das larvas submetidas aos diferentes tratamentos é apresentados no Gráfico 1 (Amostra de 10 larvas por repetição):

Gráfico 1: Curva de crescimento das larvas do 1º ao 14º dia.



Discussão

As médias de temperatura no período experimental se mantiveram em torno de 25,2 °C. Segundo Kubitz et al. (2000) temperatura abaixo de 27° C reduzem o apetite e o crescimento. Há evidências na literatura de que temperaturas altas podem resultar em maior número de machos, mesmo sem tratamento hormonal (Zanardi et al. 2006). Baras

et al., (2001) testaram várias temperaturas na reversão sexual e observaram que temperaturas entre 20 e 33° C não interferem na quantidade de machos sem o uso de hormônios.

O número de machos e fêmeas esperado em uma progênie com base no genótipo é de 1:1, entretanto Peña-Mendonza (2005) encontrou diferentes proporções sexuais em cada época do ano. A variabilidade genética para termo-sensibilidade pode resultar em grandes variações na proporção entre machos e fêmeas, Bezault (2007) criou larvas de tilápia na temperatura de 27°C encontrou variações de 4,9 a 77,7%; 45,5 a 72%; e 38,5 a 68% de machos nas proles da linhagem Kpandu, Koka e Metahara respectivamente. No presente trabalho mesmo nas larvas que não foram tratadas com hormônio a quantidade de machos foi de 72,2%, evidenciando que o lote de larvas da linhagem GIFT apresentava uma maior proporção de machos do que a esperada.

O processo de diferenciação sexual em teleósteos é maleável e a indução da reversão sexual é possível em 37 espécies gonocorísticas. A manipulação durante o período lábil resulta na produção de população monossexo e este período lábil está restrito principalmente ao período que antecede e logo após a eclosão (Pandian e Koteeswaran, 1999).

A enzima aromatase é responsável pela produção do hormônio 17-beta-estradiol a partir do quinto dia após a eclosão a 26°C, este hormônio tem um papel importante na diferenciação das gônadas das tilápias em ovários. A diferenciação dos testículos depende da expressão gênica da *Dmrt1* identificada em gônadas XY no sexto dia após a eclosão (IJIRI et al., 2008). Portanto, a expressão dos genes nas gônadas XX e XY durante o período de 5 a 6 dias após a eclosão é crucial para a diferenciação das gônadas em ovários ou testículos.

A produção de plantéis monossexo tornou-se viável para tilápias a partir do momento que a técnica de reversão sexual por meio de hormônios esteroides masculinos começou a ser usada. Esta reversão foi possível porque as células germinativas primordiais retêm seu potencial para se diferenciar em células germinativas masculinas ou femininas (Pandian e Koteeswaran, 1999). Em tilápias esta bi-potencialidade ocorre nos primeiros dias após a eclosão (Pandian e Sheela, 1995).

O método de reversão sexual é realizado por meio da oferta de 30 a 60 mg de 17- α -metiltestosterona por quilograma de ração em pó, é iniciado após a eclosão dos ovos e

tem duração de 28 dias (KUBITZA, 2000), o que pode produzir até 98% de indivíduos machos quando realizado por 30 dias com oferecimento de alimento de no mínimo 6 vezes ao dia (MAINARDES-PINTO et al., 2000). Vários estudos foram conduzidos no intuito de se encontrar o melhor protocolo para a reversão sexual (HIOTT & PHELPS, 1993; BLÁZQUEZ et al., 1995; MAINARDES-PINTO et al., 2000; TACHIBANA et al., 2004; SOUSA, 2010; OLIVEIRA, 2010).

O sucesso da reversão sexual está relacionado à quantidade de hormônio que é realmente ingerido por cada peixe durante o período de diferenciação sexual. É importante considerar a dose de hormônio para evitar problemas relacionados a overdoses que podem levar a esterilidade ou efeito paradoxal devido à aromatização de andrógenos para estrógenos, mas deve-se evitar subdoses que podem resultar em intersexo (Greisy e Gamal, 2012).

A quantidade total de hormônio oferecido durante sete dias foi baixa quando comparada a outros métodos utilizando 60mg de 17- α -metiltestosterona e/ou considerando os 30 dias de reversão feitos em pisciculturas comerciais. Considerando que não houve efeito da taxa de alimentação, os resultados de reversão do presente trabalho provavelmente possam ser explicados pelo fato de os alimentadores automáticos oferecerem ração de meia em meia hora durante o dia e a noite, o que provavelmente manteve a quantidade de hormônio sempre presente na corrente sanguínea das larvas, resultando em altas porcentagens de machos aos 7 dias.

A ração foi preparada com 30 mg de 17- α -metiltestosterona/kg⁻¹, metade do que comumente utilizado na maioria dos trabalhos, mostrando que uma menor quantidade de hormônio na ração fornecida em alta frequência e independente da taxa de alimentação durante sete dias pode resultar em uma percentagem de reversão (96% de machos em média) tão eficiente quanto 60 mg/kg⁻¹ de ração por 30 dias na reversão de tilápias. Concordando com esta afirmativa, Tayamen e Shelton (1978) administraram 30 mg de 17- α -metiltestosterona durante 25 dias e obtiveram 99,2% de machos; Mainardes-Pinto et al. (2000), encontraram 92% de machos para tilápias alimentadas com 30mg de 17- α -metiltestosterona por 45 dias. A média de 96% de machos permite sugerir quantidades menores que 30 mg/kg⁻¹ de ração e que o fornecimento de ração com hormônio, quando realizado em frequência de 48 vezes, seja feito somente na primeira semana após a eclosão.

O banho de imersão feito no 6º e 10º dia tem taxa de reversão estatisticamente igual à reversão feita pelo oferecimento de seis refeições diárias de ração com hormônio na ração por 30 dias (ZANARDI et al., 2011). No presente trabalho quando a ração foi oferecida em alta frequência e em quantidade suficiente durante sete dias, obteve média de 96% de machos mostrando que o período lábil à reversão sexual de tilápias GIFT encontra-se entre a primeira e a segunda semana após a eclosão.

Quando criadas em viveiros de terra as tilápias se reproduzem com grande facilidade e são muito prolíficas, portanto a eficiência da reversão é crucial para o bom desempenho do plantel. Segundo Lovishin et al., (1990) planteis monossexo macho de *Oreochromis niloticus* com 2,5% e 5% de fêmeas, tiveram seu ganho de peso comprometido, apresentando peso médio de 285 g e 218g respectivamente, enquanto a média de um plantel 100% monossexo macho foi 481 g, em criações de tilápias em tanque rede a possibilidade de reprodução é muito pequena, entretanto a reversão continua sendo importante pois segundo o autor os machos crescem até 2,5 vezes a mais do que as fêmeas, além disso o impacto ambiental da criação de populações mistas pode ser grande, devido a possibilidade da ocorrência de fugas e reprodução nas represas e rios (KUBITZA, 2000).

Em uma piscicultura comercial, o contato do tratador com o hormônio contido na ração é frequente, caso ele não tome as precauções necessárias, este contato pode acarretar em prejuízos a sua saúde. Segundo Khalil et al., (2011) é imprescindível o uso de luvas e máscaras de proteção ao manusear o hormônio. A automação do manejo alimentar diminui o contato do tratador com o hormônio, pois a partir do momento que o reservatório do alimentador é preenchido ele dispensará o alimento de acordo com a programação do CLP. Outro benefício é a precisão da oferta e economia de ração, pois com o aumento do número de refeições e a alimentação noturna a conversão alimentar melhora.

Em represas onde há grande movimentação da água, a disponibilidade de ração em pó é rapidamente dissipada pela correnteza e pelas ondas, portanto o intervalo entre as refeições deve ser curto e a taxa de alimentação deve ser suficiente para compensar as perdas. Portanto, é importante avaliar taxas de alimentação mais altas que as usadas neste trabalho e avaliação de novas frequências de alimentação.

Na fase inicial a ração oferecida é de extrema importância, pois, quando a ração em pó entra em contato com a água, inicia um processo de lixiviação dos nutrientes. Rações extruzadas tem menor perda de nutrientes por lixiviação, disponibilizando um alimento de melhor qualidade para os peixes recém-revertidos.

Dentre as taxas de alimentação, a superior pode ser considerada a mais efetiva, pois apesar de estatisticamente não haver diferenças entre os tratamentos, o mesmo obteve maior ganho de peso aos 14 dias. Quanto mais rápido é o crescimento das larvas, mais rápido elas podem ingerir rações granuladas disponíveis para as larvas de 15 a 20 dias, com diâmetro de 0,8 mm.

Os gastos com hormônio entre os 7 e 14 dias foram de 7,3, 6,7 e 5 mg de MT a cada 1000 larvas e quando comparados com as porcentagens de reversão sexual que não obtiveram diferença estatística, podemos notar uma grande quantidade excedente dispensada. A automação alimentar pode ser uma alternativa viável para a diminuição da quantidade de hormônio dispensada sem necessidade.

Conclusão

A taxa de alimentação superior pode ser considerada o melhor tratamento, pois possibilita um maior peso das larvas em menor tempo.

O fornecimento de ração com hormônio masculinizante em alta frequência durante sete dias é uma técnica de obtenção de população monossexo eficiente e possível substituta da técnica convencional praticada em pisciculturas comerciais.

A automação alimentar é uma alternativa viável para a diminuição do tempo de reversão sexual e quantidade de hormônio dispensada.

Referências Bibliográficas

BARAS, E.; JACOBS, B.; MÉLARD, C. Effects of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX - XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v. 1/2, n. 142, p. 187-199, 2001.

BAROILER, J.F., GUIGUEN, Y., FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences**. n. 55, p. 910-931, 1999.

BAROILLER, J.-F.; GUIGUEN, Y.; FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 55, n. 6-7, p. 910-931, 1999.

BEARDMORE, J. A.; MAIR, G. C.; LEWIS, R. I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. **Aquaculture**. v. 197, n. 1, p. 283-301, 2001.

BEZAULT, E.; CLOTA, F.; DERIVAZ, M.;CHEVASSUS, B.;BAROILLER, J. F. Sex determination and temperature-induced sex differentiation in three natural populations of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) adapted to extreme temperature conditions. **Aquaculture**. v. 272, p. S3–S16, 2007

BLÁZQUEZ, M.; PIFERRER, F.; ZANUY, S. et al. Development of Sex control techniques for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) aquaculture: effects of dietary 17 α - methyltestosterone prior to sex differentiation. **Aquaculture**. v. 135, p. 329-342, 1995.

CONTRERAS-SANCHEZ, W. M.; FITZPATRICK, M. S.; SCHRECK, C. B. Fate of methyltestosterone in the pond environment: detection of MT in pond soil from a CRSP site. **Eighteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture**. p. 79-82, 2001.

EL-GREISY, Z. A.; EL-GAMAL, A. E. Monosex production of tilapia, *Oreochromis niloticus* using different doses of 17α -methyltestosterone with respect to the degree of sex stability after one year of treatment. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**. v. 38, n. 1, p. 59-66, 2012.

GITHUKIA, C. M.; OGELLO, E. O.; KEMBENYA, E. M.; ACHIENG, A. O.; OBIERO, K. O.; MUNGUTI, J. M. Comparative growth performance of male monosex and mixed sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Reared in earthen ponds. **Croatian Journal of Fisheries**. p. 42-53, 2015.

GUPTA, M. V.; ACOSTA, B. O. From drawing board to dining table: The success story of the GIFT Project. NAGA, **WorldFish Center Quarterly**. v. 27, n. 3 – 4, 2004.

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

IJIRI, S., KANEKO, H., KOBAYASHI, T., WANG, D.S., SAKAI, F., PRASANTH, B.P., NAKAMURA, M., NAGAHAMA, Y. Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of teleost fish, the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. **Biology of Reproduction**. v. 78, p. 333-341, 2008.

KHALIL, W. K. B.; HASHEESH, W. S.; MARIE, M. A. S.; ABBAS, H. H.; ZAHRAN, E. A. Assessment the impact of 17α -methyltestosterone hormone on growth, hormone concentration, molecular and histopathological changes in muscles and testis of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. **Life Science Journal**. v. 8, n. 3, p. 329-343, 2011.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, p. 289, 2000.

LEKANG, O.I. **Aquaculture Engineering**. Blackwell, p. 330, 2007.

LOVSHIN, L. L. et al. Effects of *Oreochromis niloticus* females on the growth and yield of male hybrids (*O. niloticus* female × *O. hornorum* male) cultured in earthen ponds. **Aquaculture**. v. 88, n. 1, p. 55-60, 1990.

MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FENERICH-VERANI, N.; DE CAMPOS, B. E. S.; DA SILVA, A. L. Masculinização da tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 3, p. 654-659, 2000.

OLIVEIRA, L. C. 2013 <http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2386> visto em 02/02/2015.

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

PANDIAN, T.J.; KOTEESWARAN, R. Lability of sex differentiation in fish. **Currents Science**. v. 76, n. 4, p. 580-583, 1999.

PAPANDROULAKIS, N. et al. An automated feeding system for intensive hatcheries. **Aquacultural Engineering**. v. 26, p. 13-26, 2002.

PEÑA-MENDOZA, B. et al. Reproductive biology of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) at Emiliano Zapata dam, Morelos, Mexico. **Revista de biologia tropical**. v. 53, n. 3-4, p. 515-522, 2005.

ROSARIO, J. M.; **Automação industrial**. São Paulo: Brauná, p. 515, 2009

SOUSA, R. M. R.; AGOSTINHO, C. A.; OLIVEIRA, F. A.; ARGENTIM, D.; NOVELLI, P. K.; AGOSTINHO, S. M. M. Productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed at different frequencies and periods with automatic

dispenser. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 64, p. 192-197. 2012.

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

TAYMAN, M. M.; SHELTON, W. L. Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus). **Aquaculture**. n. 14, p. 349–354, 1978.

ZANARDI, M. F.; DIAS KOBERSTEIN, T. C. R.; URBINATI, E. C.; FAGUNDES, M.; SANTOS, M. D.; MATAQUEIRO, M. I. Concentrações de hormônio na carcaça de tilápias-do-nilo e maturação precoce após reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, n. 1, p. 7-11, 2011.

ZANARDI, Y. M. F.; DIAS-KOBERSTEIN, T. C. R.; DOS SANTOS, M. A. Comparação entre métodos de reversão sexual de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), variedade Chitralada. In: **AquaCiências**. 2006, Bento Gonçalves - RS, Anais.