

## Masculinização de Larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a Partir de Banhos de Imersão com 17 $\alpha$ -Metiltestosterona

Robie Allan Bombardelli<sup>1</sup>, Carmino Hayashi<sup>2</sup>

**RESUMO** - Determinaram-se os períodos ontogênicos de maior sensibilidade das larvas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) à masculinização, com 17  $\alpha$ -metiltestosterona (MT), a partir de banhos de imersão, contendo 2,0 mg MT.L<sup>-1</sup>, por 36 horas, em um experimento realizado em duas fases – a primeira com tratamentos hormonais e a segunda na fase de alevinagem. Foram utilizadas 1.200 larvas provenientes de um mesmo lote de reprodutores e distribuídas em 24 recipientes plásticos (0,5 L), em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos hormonais e quatro repetições. Considerou-se, como unidade experimental, um recipiente plástico contendo 0,5 L de solução hormonal e 50 larvas. Os tratamentos constituíram-se na imersão das larvas em diferentes fases de desenvolvimento ontogênico, correspondentes a 133,7 UTAs (dias – grau) ou 5 DPE (dias após a eclosão); 188,2 UTAs ou 7 DPE; 242,3 UTAs ou 9 DPE; 296,8 UTAs ou 11 DPE; 352,6 UTAs ou 13 DPE; e 408,2 UTAs ou 15 DPE. Após os tratamentos, as larvas foram cultivadas até atingirem o comprimento padrão mínimo de 25 mm. Os resultados de masculinização evidenciaram a existência de um período de maior sensibilidade aos 15 DPE ou 408,2 UTAs, com 85,19% de machos. Observou-se relação linear positiva entre o período ontogênico e as taxas de masculinização. As médias de comprimento total e peso final, fator de condição e sobrevivência não diferiram entre os tratamentos.

Palavras-chave: andrógeno, banho de imersão, ontogênese, *Oreochromis niloticus*, reversão sexual, tilápia

## Masculinization of Larvae of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by Immersion Baths with $\alpha$ -Methyltestosterone

**ABSTRACT** - An experiment was carried out in two steps (the first was hormonal treatments and the other the larvae grow up phase) to determine the best ontogenic periods for larvae of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) regarding masculinization hormonal treatments with 17  $\alpha$ -methyltestosterone (MT) by immersion baths in 2.0 mg MT.L<sup>-1</sup> solution for 36 hours. One thousand and two hundred larvae of Nile tilapia, from the same reproduction bunch, were allotted to 24 plastic containers with 0.5L in a completely randomized experimental design composed of six treatments and four replicates. An experimental unit consisted of a 0.5 L plastic container with hormonal solution and 50 larvae. Treatments consisted of immersion of larvae at different ontogenic phases, 133.7 UTA (days – degrees) or 5 DAE (days after eclosion); 188.2 UTA or 7 DAE; 242.3 UTA or 9 DAE; 296.8 UTA or 11 DAE; 352.6 UTA or 13 DAE; and 408.2 UTA or 15 DAE. After the treatments the larvae were cultivated till they reached a standard length of 25 mm. Masculinization results showed 15 DAE or 408.2 UTA as the best period, with 85.19% males. Results also suggested a positive linear relationship between the ontogenic period and masculinization rates. There was no difference in treatments with regard to average final length and weight, condition factor and mortality.

Key Words: androgyny, immersion baths, ontogenesis, *Oreochromis niloticus*, sexual reversion, tilapia

### Introdução

Entre as espécies de peixes usadas na aquicultura, as tilápias, sobretudo as do gênero *Oreochromis*, são algumas das mais promissoras (Stickney, 2000), em países de clima tropical ou subtropical (Campos-Ramos et al., 2003; Desprez et al., 2003). Com exceção das carpas, as tilápias são os peixes mais cultivados no mundo (Alceste & Jorry, 1998) e no

Brasil (Lovshin & Cyrino, 1998). Peixes do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, são considerados importantes para as condições de cultivo brasileiras, graças à sua rápida taxa de crescimento, à adaptabilidade aos diversos sistemas de cultivo e à alta aceitação pelo mercado consumidor (Meurer et al., 2000; Boscolo et al., 2001).

As tilápias consistem em um paradoxo em relação à reprodução. Apresentam desovas parcelas e

<sup>1</sup> Professor Assistente do curso de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE – Campus de Toledo. Rua da Faculdade, nº 645 – Jardim La Salle – CEP: 85903-000, Toledo/PR. E.mail: rabombardelli@unioeste.br; rabombardelli@bol.com.br  
<sup>2</sup> Pesquisador do Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica da Agronegócio de Pescado Continental, Instituto de Pesca, APTA/SAA, São José do Rio Preto/SP. E.mail: hayashi@pesca.sp.gov.br.

baixa fecundidade, que no gênero *Oreochromis* pode alcançar índices de 6.000 a 13.000 ovos/kg/desova (Phelps & Popma, 2000). Esta baixa fecundidade é compensada pela característica de desovas assíncronas, associada às altas taxas de sobrevivência das proles, em virtude do cuidado parental, do tamanho das larvas ao nascer e da incubação bucal dos ovos e/ou larvas (Turner & Robinson, 2000).

Associada às características reprodutivas, as tilápias apresentam ainda maturação sexual precoce, fato que pode levar a problemas em condições de cultivo, como desvio da energia destinada ao crescimento para a reprodução, superpopulação e queda da qualidade de água (Stickney, 2000).

Na tentativa de minimizar estes problemas, técnicas de produção de populações monosexuais (Phelps & Popma, 2000), a partir da utilização de andrógenos, têm sido largamente utilizadas (Penman & McAndrew, 2000). Atualmente, a técnica mais empregada na produção de populações monosexuais masculinas é a incorporação, na ração (MacIntosh & Little, 1995; Leonhardt, 1997), do andrógeno sintético 17  $\alpha$ -metiltestosterona (Beardmore et al., 2001), um derivado metilado da testosterona (Piferrer & Donaldson, 1991), utilizando o protocolo de 30 a 60 mg de 17  $\alpha$ -metiltestosterona.kg<sup>-1</sup> de ração, durante os primeiros 21 a 28 dias de cultivo (Popma & Green, 1990; Kubitza, 2000).

Apesar da simplicidade e facilidade de aplicação desta técnica, fatores ambientais e as hierarquias sociais prejudicam a obtenção da ração pelas larvas (MacIntosh & Little, 1995), levando à redução das taxas de masculinização. Associado a este problema, existe a necessidade da redução da dosagem e do tempo de exposição nos tratamentos (Piferrer, 2001).

A técnica de banhos de imersão envolve exposições periódicas ou contínuas dos animais em solução contendo agente alterador da diferenciação de sexo (Pandian & Sheela, 1995), é um método alternativo à suplementação dietética. A imersão apresenta menor custo de aplicação (Pandian & Sheela, 1995), pode minimizar o efeito de variáveis potencialmente influentes no método de incorporação de esteróides na ração (Gale et al., 1999; Beardmore et al., 2001), e possui menor grau de intervenção. Este método diminui o tempo de exposição do manipulador ao hormônio, sendo mais seguro para o ambiente, por possibilitar o armazenamento do resíduo para posterior degradação (Gale et al., 1999) ou filtragem em carbono ativado (Specker & Chandlee, 2003).

Experimentos de banhos de imersão têm sido realizados desde 1965 (Phelps & Popma, 2000), utilizando-se principalmente salmonídeos *Oncorhynchus kisutch* (Goetz et al., 1979; Piferrer & Donaldson, 1989; Piferrer & Donaldson, 1991), *Oncorhynchus tshawytscha* (Piferrer et al., 1993), truta arco-íris (Fiest et al., 1995) e tilápias *Oreochromis aureus* (Eckstein & Spira, 1965; Torrans et al., 1988), *Sarotherodon mossambicus* (Billy & Liley, 1985) e *Oreochromis niloticus* (Apple & Lebouté, 1995; Fitzpatrick et al., 1997; Gale et al., 1999; Wassermann et al., 2000).

A imersão não é empregada comercialmente, em razão da inexistência de protocolo efetivo, para nível de intervenção, idade das larvas, densidade de estocagem e outros.

Segundo Blázquez et al. (1995) e Piferrer (2001), a determinação do período de desenvolvimento ontogênico de maior sensibilidade dos animais aos tratamentos com hormônios exógenos estabelece regimes efetivos para a reversão sexual. Parâmetros como duração dos tratamentos, dose entre outros poderão ser ajustados para maior eficiência dos tratamentos (Strussmann et al., 1996).

Um dos pioneiros na área de reversão sexual, Yamamoto (1969), determinou que a administração dos esteróides deveria iniciar em gônadas indiferenciadas e terminar após a sua diferenciação. Contudo, estudos em diversas espécies de peixes teleósteos têm mostrado que os tratamentos hormonais podem se limitar a curtos períodos de tempo, quando realizados no período de maior sensibilidade da espécie (Piferrer, 2001). Foram observadas respostas diferenciadas em diferentes estádios ontogênicos, tanto em metodologias empregando suplementação dietética dos hormônios 17  $\alpha$ -metiltestosterona (Hiott & Phelps, 1993; Blázquez et al., 1995), 17  $\alpha$ -metildihidrotestosterona (Blázquez et al., 2001), quanto por imersão em 17  $\alpha$ -metiltestosterona (Billy & Liley, 1985; Piferrer & Donaldson, 1989), 11  $\beta$ -hydroxyandrostenediona (Fiest et al., 1995), testosterona (Koger et al., 2000) e 17  $\beta$ -estradiol (Krisfalusi & Nagler, 2000).

Esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de determinar a fase ontogênica de maior sensibilidade ao tratamento de banho de imersão com o andrógeno 17  $\alpha$ -metiltestosterona, avaliando seus efeitos sobre a reversão sexual e os parâmetros de desempenho zootécnico, para larvas indiferenciadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Aqüicultura do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá, com início em 21/01/2003 e término em 02/03/2003, totalizando um período experimental de 40 dias.

Foram adotadas duas fases – a primeira constituída pelos tratamentos hormonais de imersão de larvas, em diferentes idades ou fases de desenvolvimento ontogênico, e a segunda, pela fase de crescimento ou alevinagem dos animais até atingirem o comprimento necessário para avaliação dos resultados de masculinização e desempenho (peso, comprimento, fator de condição e sobrevivência).

Foram utilizadas 1.200 larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de diversas proles de um mesmo lote de reprodutores. Inicialmente, foi retirada uma amostra de 100 larvas para a determinação do peso e comprimento inicial médio. Em seguida, as larvas foram alojadas em 24 gaiolas de volume útil de 1,5 L, a uma densidade de 50 larvas por gaiola. Cada gaiola foi alojada em um tanque rede experimental, de malha 1,0 mm e dimensões de 0,4 m x 0,5 m x 0,6 m, que estavam distribuídos dentro de quatro caixas de fibro-cimento (1.000 L) (Figura 1). As gaiolas receberam aeração por pedra micro porosa e, as caixas de 1.000 L, circulação constante de água, proporcionando uma taxa de renovação de aproximadamente 20% do volume total ao dia. Este procedimento teve duração até a realização do último tratamento hormonal e foi realizado para manter a homogeneidade entre as densidades de estocagem.

Na primeira fase, os animais foram transferidos das gaiolas para recipientes plásticos (Figura 2), de 0,5 L de volume útil, sendo distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos hormonais e quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Foi considerada como uma unidade experimental um recipiente plástico, contendo um volume útil de solução de 0,5 L e 50 larvas em cada. Com base em ensaios prévios, os seis tratamentos foram constituídos pela imersão das larvas em diferentes idades ou fases de desenvolvimento ontogênico, correspondentes a 133,7 UTAs (dias – grau) ou 5 DPE (dias após a eclosão); 188,2 UTAs ou 7 DPE; 242,3 UTAs ou 9 DPE; 296,8 UTAs ou 11 DPE; 352,6 UTAs ou 13 DPE; e 408,2 UTAs ou 15 DPE. O andrógeno utilizado foi 17  $\alpha$ -metiltestosterona e o veículo de diluição o álcool etílico (95 GL). Em

todos os tratamentos, os banhos tiveram duração de 36 horas e, com base em ensaios prévios, utilizou-se uma concentração hormonal de 2,0 mg de 17  $\alpha$ -metiltestosterona.L<sup>-1</sup> de solução, procurando-se manter concentração alcoólica final da solução de 0,04%, que não é prejudicial aos peixes (Goetz et al., 1979).

Durante os banhos de imersão, as unidades experimentais receberam aeração por pedra micro porosa para possibilitar a constante homogeneização da solução (Gale et al., 1999) e evitar a hipóxia. As unidades experimentais foram mantidas em uma caixa d'água de fibro-cimento com aproximadamente 400L, em forma de banho-maria, a fim de permitir a homogeneização da temperatura entre as unidades experimentais (Figura 2). A caixa d'água era dotada de sistema de aquecimento por resistência elétrica de 2.000 W ligada a um termostato, mantendo-se a temperatura máxima e mínima entre 28,3°C e 27,0°C, respectivamente. Durante os tratamentos hormonais, a temperatura da água foi aferida a partir de um termômetro de máxima e mínima, com escala de precisão de 1°C.

Após os banhos de imersão, durante o início da alevinagem, as larvas permaneceram dentro das gaiolas de 1,5 L, sendo liberadas nos respectivos tanques-rede de cada tratamento, somente após o último tratamento de imersão. Nesta fase (fase II), os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e quatro repetições. Foi considerada

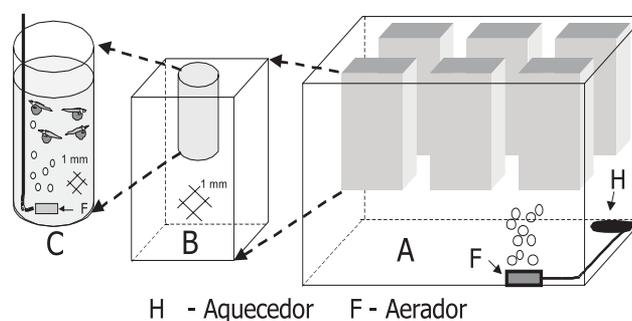


Figura 1 - Desenho esquemático das instalações utilizadas para alojar aos animais durante o período experimental. A - Caixa de fibro - cimento de 1.000 L, B - Tanque-rede experimental (0,4 m x 0,5 m x 0,6 m) e C - Gaiola de 1,5 L.

Figure 1 - Installation schematical drawing used to lodge the animals during the experimental period. A - 1,000L water box, B - Experimental net pond (0.4 m X 0.5 m X 0.6 m) and C - 1.5 L cage.

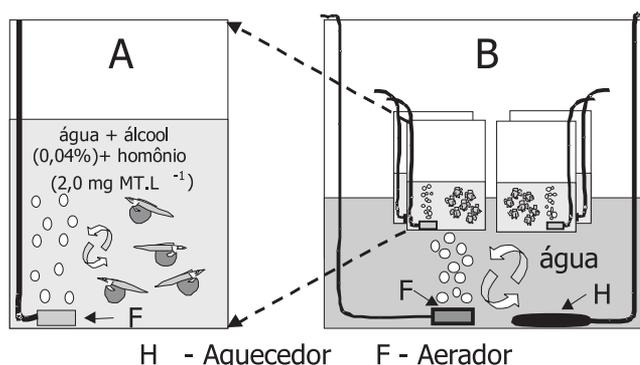


Figura 2 - Desenho esquemático das estruturas utilizadas para a realização dos tratamentos hormonais. A - Recipiente plástico de 0,5 L e B - Caixa d'água de fibro - cimento de 400 L.  
 Figure 2 - Structure schematical drawing used to accomplishment hormonal treatments". A - 0.5L Plastic container and B - 400L water box.

como uma unidade experimental um tanque-rede, contendo 50 larvas e os blocos constituídos por uma caixa de fibro-cimento (1.000 L), contendo seis unidades experimentais, referentes a cada tratamento.

Os animais foram cultivados até atingirem o comprimento-padrão mínimo de 2,5 cm, necessário para a realização da análise de proporção entre os sexos. As larvas foram alimentadas cinco vezes ao dia (Sanches & Hayashi, 2001), diariamente, em regime *ad libitum*, com uma ração-base e sem o uso de hormônio (Tabela 1), atendendo às exigências nutricionais da espécie nesta fase, contendo 38,5% de proteína digestível e 3.800 kcal de energia digestível.kg<sup>-1</sup> de ração (Hayashi et al., 2002). Os alimentos utilizados na formulação da ração foram processados de acordo com Hayashi et al. (1999) e Meurer et al. (2003).

Os tanques-rede utilizados nesta fase (fase II) receberam aeração por pedra micro porosa e a temperatura da água das caixas foi controlada por resistências elétricas, de modo a manter este parâmetro por volta de 26 a 28°C, evitando a masculinização devida à exposição a altas temperaturas (Baroiller & D'Cotta, 2001).

Diariamente, pela manhã e à tarde, foi mensurada a temperatura da água das caixas com termômetro de mercúrio, escala de 1°C e, realizada a sifonagem da água das caixas e limpeza da tela dos tanques-rede, para a retirada das excretas e restos de alimento. Semanalmente, foram mensurados o oxigênio dissol-

vido (mg.L<sup>-1</sup>), condutividade elétrica (µS.cm<sup>-1</sup>) e pH da água das caixas.

Ao término do experimento, os alevinos foram dessensibilizados por choque térmico a aproximadamente 2°C e em seguida sacrificados para mensuração do peso (mg) e do comprimento total (mm) final. Também foram calculados os fatores de condição e as taxas de sobrevivência (%).

Em seguida, os animais foram fixados inteiros em solução de formalina a 10%, para análise sob microscopia óptica das gônadas coradas (Popma & Green, 1990), para a determinação da proporção entre os sexos.

O modelo estatístico utilizado para as análises das variáveis estudadas foi:

$$Y_{ij} = \beta_o + \beta_1 x_i + \beta_2 x_2 + e_{ij},$$

em que  $Y_{ij}$  = observação referente ao recipiente j onde se utilizou o período ontogênico i;  $\beta_o$  = constante geral;  $\beta_1$  = coeficiente linear de regressão da variável Y em função do período ontogênico i;  $\beta_2$  = coeficiente quadrático de regressão da variável Y em função do período ontogênico i;  $x_i$  = período ontogênico i;  $e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

Tabela 1 - Composição percentual da ração-base utilizada durante o período experimental  
 Table 1 - Percentage composition of the basal ration fed during the experimental period

Alimento Food	Quantidade (%) Amount (%)
Farinha de vísceras de frango Poultry viscera meal <sup>1</sup>	54,63
Farelo de soja Soybean meal <sup>2</sup>	19,15
Levedura Spray dried yeast <sup>1</sup>	6,00
Milho Corn <sup>2</sup>	7,68
Óleo de soja Soybean oil <sup>2</sup>	10,02
Suplemento (min + vit) Supplement (min + vit)	2,00
Sal Salt	0,50
Antioxidante BHT Antioxidant BHT	0,02

<sup>1</sup> De acordo com os valores de digestibilidade de Meurer (2002).  
<sup>2</sup> De acordo com os valores de digestibilidade de Boscolo et al. (2002).

<sup>1</sup> According to the digestibility values from Meurer (2002).

<sup>2</sup> According to the digestibility values from Boscolo et al. (2002).

Os dados dos índices zootécnicos, de proporção entre os sexos e parâmetros físico-químicos da água, foram submetidos à análise de variância ao nível de 1% de probabilidade e, no caso da evidência de diferença significativa, foi aplicada a análise de regressão. O software utilizado para a realização das análises estatísticas, foi o Sistema de Análise Estatística e Genética (SAEG) (UFV, 1997).

### Resultados e Discussão

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água nos diferentes tratamentos não apresentaram diferença ( $P>0,01$ ) e suas médias foram de  $27,30 \pm 1,14$  °C;  $7,85 \pm 0,60$ ;  $7,52 \pm 0,51$  mg.L<sup>-1</sup>;  $0,16 \pm 0,05$  μS.cm<sup>-1</sup>, respectivamente, mantendo-se dentro dos limites considerados adequados para o cultivo de peixes (Boyd, 1990; Sipaúba-Tavares, 1995) e para o bom desempenho da espécie (Popma & Phelps, 1998).

O percentual de machos variou de 69,84% a 85,19% (Tabela 2), sugerindo a existência de um período de maior sensibilidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) aos tratamentos hormonais aos 15 DPE ou 408,2 UTAs, com 85,19% de machos. Os resultados mostram, para a faixa de idade testada, uma relação de dependência linear positiva ( $P<0,01$ ), entre idade das larvas e as taxas de masculinização (Figura 3). Contudo, novos experimentos utilizando intervalos com idades superiores podem indicar comportamento quadrático dos resultados.

Apesar dos resultados de percentual de fêmeas não apresentar diferença ( $P>0,01$ ) entre os tratamentos, seus valores permaneceram entre 9,75 e 16,97% (Tabela 2).

Observou-se redução linear do percentual de interssexuais de 14,05 para 3,27% (Tabela 2) com o aumento da idade ( $P<0,01$ ). Considerando que, indivíduos interssexuais podem ocorrer devido à ineficiência dos tratamentos hormonais (Pandian & Sheela, 1995; Carvalho & Foresti, 1996), os resultados corroboraram os dados de masculinização, onde os tratamentos tornam-se mais eficientes quando as larvas são mais velhas, reduzindo, conseqüentemente, os índices de interssexualidade.

A existência de um período ontogênico de maior sensibilidade aos tratamentos hormonais tem sido verificado em diversas espécies como *Oncorhynchus kisutch* (Goetz et al., 1979; Piferrer & Donaldson, 1989) *Dicentrarchus labrax* (Blázquez et al., 1995),

*Oryzias latipes* (Koger et al., 2000) *Oncorhynchus mykiss* (Krisfalusi & Nagler, 2000).

Taxas de masculinização semelhantes às determinadas no presente experimento foram obtidas por Gale et al. (1999), ao submeterem larvas de tilápia do Nilo a dois banhos de imersão consecutivos de 3 horas, com 0,1 mg de 17 α-metiltestosterona.L<sup>-1</sup>, em dois períodos ontogênicos (10 e 13 dias após a fertilização), obtendo 73 e 83% de machos, em dois ensaios consecutivos.

Apple & Leboutte (1995), realizaram banhos de imersão de 2 horas em tilápias do Nilo com 7 e 14 DPE e verificaram que os tratamentos realizados no 14° DPE foram mais eficientes. Por outro lado, Wassermann et al. (2000) não verificaram consistência nos resultados de masculinização em tilápia do Nilo com 14 DPE, a partir de banhos de imersão de 4 horas com 17 α-metiltestosterona. Fiest et al. (1995) verificaram a existência de um período de maior sensibilidade para truta arco-íris, submetidas a tratamentos com 17 α-metiltestosterona. Contudo, esses autores observaram que a imersão resultou em vários graus de masculinização, enquanto a imersão associada com a suplementação dietética foi 100% efetiva.

Os resultados neste experimento podem não ter sido totalmente eficientes, em razão do efeito linear observado para o intervalo de idade testada, considerando que o ponto de máxima sensibilidade possa vir

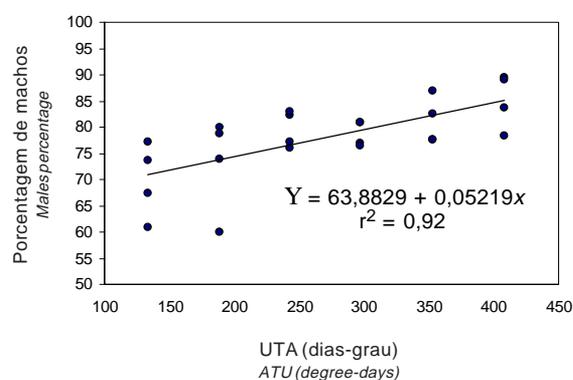


Figura 3 - Porcentagem de masculinização de larvas de tilápias do Nilo, submetidas a banhos de imersão com 17 α-metiltestosterona em diferentes períodos ontogênicos.

Figure 3 - Percentage of masculinization of larvae of Nile tilapia, submitted to bath immersion with 17 α-metiltestosterone, in different ontogenic stage.

Tabela 2 - Valores de desempenho zootécnico e proporção entre os sexos de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetidas a banhos de imersão com 17  $\alpha$ -metiltestosterona, em diferentes períodos ontogênicos  
 Table 2 - Values of performance and sexual ratio of larvae of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to bath immersion with 17  $\alpha$ -metiltestosterone, in different ontogenic period

	Unidade térmica acumulada/UTA (dias-grau)						CV
	Accumulated thermal unit/ATU (degree-days)						
Resultados	133,7	188,2	242,3	296,8	352,6	408,2	
<i>Results</i>							
Peso inicial (mg)	9,23	11,56	14,46	19,12	27,62	30,19	
<i>Initial weight (mg)</i>							
Peso final (mg)	930,00	840,00	860,00	810,00	890,00	890,00	13,19 <sup>ns</sup>
<i>Final weight (mg)</i>							
Comprimento inicial (mm)	9,10	9,55	10,00	11,30	13,10	13,30	
<i>Initial length (mm)</i>							
Comprimento final (mm)	28,6	28,5	26,8	27,2	28,5	27,9	5,87 <sup>ns</sup>
<i>Final length (mm)</i>							
Fator de condição	0,040	0,037	0,045	0,040	0,039	0,041	13,06 <sup>ns</sup>
<i>Condition factor</i>							
Sobrevivência (%)	90,00	94,00	91,00	96,00	91,00	88,50	5,16 <sup>ns</sup>
<i>Survival (%)</i>							
Machos (%) <sup>1</sup>	69,84	73,16	79,64	78,85	81,28	85,19	7,43 <sup>**</sup>
<i>Male sex ratio (%)</i>							
Fêmeas (%)	16,12	19,97	13,27	13,20	15,45	9,75	44,76 <sup>ns</sup>
<i>Female sex ratio (%)</i>							
Intersexuais (%) <sup>2</sup>	14,05	9,87	7,09	7,96	3,27	5,07	66,45 <sup>**</sup>
<i>Intersex ratio (%)</i>							

\*\* Dados com diferença significativa a 1% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Dados sem diferença significativa.

\*\* Data with significant difference at 1% of probability.

<sup>ns</sup> Data without significant difference.

<sup>1</sup>  $y = 63,8829 + 0,05219x$ ,  $r^2 = 0,92$ ; <sup>2</sup>  $y = 16,8576 - 0,0331967x$ ,  $r^2 = 0,81$

a ser superior a 15 DPE e, as dosagens hormonais, devem ser ajustadas para a referida idade de maior sensibilidade.

O comprimento inicial médio das larvas, em cada tratamento, variou de 9,10 a 13,30 mm, e os melhores resultados de masculinização foram obtidos com larvas de 13,30 mm (Tabela 2). Estes valores condizem com Hiott & Phelps (1993), que recomendaram a utilização de larvas de tilápia do Nilo com tamanho inicial entre 13 e 14 mm.

Em relação ao peso final médio (g), comprimento final médio (cm), fator de condição e sobrevivência (%), não foram observados diferença significativa ( $P > 0,01$ ) entre os tratamentos (Tabela 2). Koger et al. (2000), estudando o estádio de maior sensibilidade de *Oryzias latipes* a testosterona e 17  $\beta$ -estradiol, não verificaram diferenças significativas quanto à mortalidade e peso corporal. Para Gale et al. (1999) os tratamentos de imersão não afetam a mortalidade dos animais. A inexistência de diferença significativa entre os tratamentos para peso, comprimento, fator de condição e sobrevivência, pode ser explicada pela

curta duração dos tratamentos hormonais, sendo o andrógeno rapidamente metabolizado e excretado, não causando efeito anabólico. Como as dosagens hormonais utilizadas foram as mesmas para todas as idades, espera-se efeito anabólico homogêneo entre os tratamentos. Isto sugere ainda, a inexistência de uma relação entre o andrógeno e a idade dos animais, quanto à capacidade anabólica e toxicidade.

A partir dos resultados observados neste estudo, ajustes de parâmetros como dose, duração dos tratamentos, densidade e manejo, deverão ser executados a fim de melhorar a eficiência e viabilidade da reversão sexual por banhos de imersão.

## Conclusões

Os tratamentos de imersão não causam problemas de crescimento e mortalidade das larvas. O período ontogênico de maior sensibilidade das larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), aos tratamentos hormonais com 17 $\alpha$ -metiltestosterona, foi de 15 DPE ou 408,2 UTAs, apresentando 85,19% de machos.

## Literatura Citada

- ALCESTE, C.; JORRY, D.E. Análisis de las tendencias actuales en la comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p.349-364.
- APPLE, H.B.; LEBOUTE, E.M. Masculinização de pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando andrógenos através de tratamentos de imersão. In: ENCONTRO SUL BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1995, Ibirubá. **Anais...** Ibirubá: COTRIBÁ e Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. p.113-119.
- BAROILLER, J.F.; D'COTTA, H. Environment and Sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v.130, p.399-409, 2001.
- 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, p.283-301, 2001.
- 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 (*diacentrarchus labrax* L.) aquaculture: effects of dietary 17  $\alpha$ -metiltestosterone prior to sex differentiation. **Aquaculture**, v.135, p.329-342, 1995.
- BLÁZQUEZ, M.; ZANUY, S.; CARRILLO, M. et al. Critical period of androgen – inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass. **Journal of Fish Biology**, v.58, p.342-358, 2001.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para o tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. et al. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1391-1396, 2001.
- BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing Co, 1990. 482p.
- CAMPOS-RAMOS, R.; HARVEY, S.C.; MCANDREW, B.J. et al. An investigation of sex determination in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, FISH, sex reversal and gynogenesis. **Aquaculture**, v.221, p.125-140, 2003.
- CARVALHO, E.D.; FORESTI, F. Reversão de sexo em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* Trewavas, 1983, induzida por 17  $\alpha$ -metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. **Revista Brasileira de Biologia**, v.56, n.2, p.249-262, 1996.
- DESPREZ, D.; GÉRAZ, E.; HOAREAU, M.C. et al. Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11  $\beta$ -hydroxyandrostenedione (11bOHA4), in Florida red tilapia. **Aquaculture**, v.216, p.55-65, 2003.
- ECKSTEIN, B.; SPIRA, M. Effects of sex hormones on gonadal differentiation in a cichlid, *Tilapia aurea*. **Biological Bulletin**, v.7, p.482-489, 1965.
- FIEST, G.; YEOH, C.; FITZPATRICK, M.S. et al. The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17  $\alpha$ -metiltestosterone and 11  $\beta$ -hydroxyandrostenedione. **Aquaculture**, v.131, p.145-152, 1995.
- FITZPATRICK, M.S.; GALE, W.L.; CONTRERAS, W. et al. Masculinization of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by short-term immersion in methylidihydrotestosterone. In: THE ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1997, Seattle. **Proceedings...** Seattle: World Aquaculture Society, 1997. p.158.
- GALE, W.L.; FITZPATRICK, M.S.; LUCERO, M. et al. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. **Aquaculture**, v.178, p.349-357, 1999.
- GOETZ, F.W.; DONALDSON, E.M.; HUNTER, G.A. et al. Effects of estradiol 17 $\beta$  and 17  $\alpha$ -methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **Aquaculture**, v.17, p.267-278, 1979.
- HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. et al. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.823-829, 2002.
- HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. et al. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3, p.733-737, 1999.
- 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.
- KOGER, C.S.; TEH, S.J.; HINTON, D.E. Determining the sensitive developmental stages of intersex induction in medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 beta-estradiol or testosterone. **Marine Environmental Research**, v.50, n.1-5, p.201- 206, 2000.
- KRISFALUSI, M.; NAGLER, J.J. Induction of gonadal intersex in genotypic male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos following immersion in estradiol – 17beta. **Molecular Reproduction and Development**, v.56, n.4, p.495-501, 2000.
- KUBITZA, F. **Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000. 289p.
- LEONHARDT, J.H. **Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1997. 128p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, 1997.
- LOVSHIN, L.L.; CYRINO, J.E.P. Status of commercial fresh water fish culture in Brazil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1998. p.1-20.
- MACINTOSH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Eds.) **Broodstock management and egg and larval quality**. London: Blackwell Science Ltda., 1995. p.277-320.
- MEURER, F. **Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de alguns alimentos protéicos para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) e efeito do processamento da ração durante a reversão sexual**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. 57p. Dissertação de mestrado (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2002.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Influência do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo, durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.262-267, 2003.

- MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. et al. Utilização de levedura *spray dried* na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum**, v.22, n.4, p.479-484, 2000.
- PANDIAN, T.J.; SHEELA, S.G. Hormonal induction of sex reversal in fish. **Aquaculture**, v.138, p.1-22, 1995.
- PENMAN, D.J.; MCANDREW, B.J. Genetics for the management and improvement of cultured tilapias In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Eds.) **Tilapias: biology and exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.227-266.
- PHELPS, R.P.; POPMA, T.J. Sex reversal of tilapia. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Eds.) **Tilapia aquaculture in the Americas**. Louisiana: World Aquaculture Society, 2000. v.2, p.34-59.
- PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture**, v.197, p.229- 281, 2001.
- PIFERRER, F.; DONALDSON, E.M. Dosage – dependent differences in the effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the resulting phenotype of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.9, n.2, p.145-150, 1991.
- 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, p.251-262, 1989.
- PIFERRER, F.; BACKER, I.J.; DONALDSON, E.M. Effects of natural, synthetic, aromatizable, and nonaromatizable androgens in male sex differentiation in genotypic female chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **General and Comparative Endocrinology**, v.91, n.1, p.59-65, 1993
- POPMA, T.J.; PHELPS, R.P. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Aquicultura, 1998. p.127-145.
- POPMA, T.J.; GREEN, B.W. Aquacultural production manual: sex reversal of tilapia in earthen ponds. **Research and Development Series**, v.35, p.1-15, 1990.
- SANCHES, L.E.F.; HAYASHI, C. Effect of feeding frequency on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fries performance during sex reversal in hapas. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.871-876, 2001.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. **Limnologia aplicada à aquíicultura**. Jaboticabal: FINEP, 1995. 70p.
- 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, p.663-672, 2003.
- STICKNEY, R.R. Status of research on tilapia In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Eds.) **Tilapia aquaculture in the Americas**. Louisiana: World Aquaculture Society, 2000. v.2, p.21-33.
- STRUSSMANN, C.A.; TAKASHIMA, F.; TODA, K. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v.139, p.31-45, 1996.
- TORRANS, L.; MERIWETHER, F.; LOWELL, F. Sex-reversal of *Oreochromis aureus* by immersion in Mibolerone, a synthetic steroid. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.19, n.3, p.97-102, 1988.
- TURNER, G.F.; ROBINSON, R.L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. (Eds.) **Tilapias: biology and exploitation**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.33-58.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão, 7.1. Viçosa, MG: 1997. 150p. (Manual do usuário).
- WASSERMANN, G.J.; AFONSO, L.O.B.; OTT, R.P. et al. Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), usando andrógenos, através de banhos de imersão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. (CD-ROM)
- YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W.S.; RANDALL D.J. (Eds.) **Fish physiology**. New York: Academic Press, 1969. v.3, p.117-175.

Recebido em: 05/09/03

Aceito em: 01/09/04