

Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por banhos de imersão e o andrógeno dissolvido em solução de dimetilsulfóxido (DMSO)

Robie Allan Bombardelli^{1*}, Carmino Hayashi², Fábio Meurer³ e Darci Carlos Fornari²

¹Universidade do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Rua da Faculdade, 645, Jardim La Salle, 85903-000, Toledo, Paraná, Brasil. ²Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ³Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Campus de Toledo, Av. da União, 500, Jardim Coopagro, 85902-535, Toledo, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: rabombardelli@bol.com.br

RESUMO. O experimento constituiu-se de dois ensaios. O primeiro objetivou determinar a concentração de dimetilsulfóxido não-prejudicial às larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) para utilização em banhos de imersão, e o segundo avaliou a masculinização e o desempenho zootécnico das larvas submetidas à imersão em diferentes concentrações hormonais. Os animais foram imersos por 36 horas em recipientes de 0,5L, com 50 larvas. No primeiro ensaio, utilizaram-se as concentrações de 0,04%; 0,1%; 0,3%; 0,7% e 1,0% de dimetilsulfóxido, não apresentando diferença significativa ($p>0,05$) sobre resultados de sobrevivência entre os tratamentos. No segundo ensaio, utilizaram-se os tratamentos de 0,5; 1,5; 2,5; 3,5; 4,5 e 5,5mg de 17α -metiltestosterona.L⁻¹, em solução de 0,04% de dimetilsulfóxido, verificando-se melhor resultado ($p<0,05$) para 5,5mg (86,15% de machos). Conclui-se que o dimetilsulfóxido não causa danos aos animais e as maiores taxas de masculinização são verificadas com imersão em 5,5mg de 17α -metiltestosterona.L⁻¹.

Palavras-chave: reversão sexual, dimetilsulfóxido, banhos de imersão, *Oreochromis niloticus*, 17α -metiltestosterona.

ABSTRACT. Masculinization of Nile tilapia fries (*Oreochromis niloticus*) through bath immersion and androgen dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) solution. This experiment was composed of two essays. The first one studied the deleterious effect of dimethylsulfoxide concentration on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fries through bath immersion. The second assessed the sex reversal of male and the performance of Nile tilapia fries submitted to immersion in different hormone concentrations. The animals were immersed over 36 hours in recipients of 0.5L, with fifty fries. In the first essay dimethylsulfoxide concentrations of 0.04, 0.1, 0.3, 0.7 and 1.0% were utilized and there was no significant difference ($p>0.05$) in survival results between the treatments. In the second essay 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5 and 5.5mg of 17α -methyltestosterone.L⁻¹ were utilized in 0.04% dimethylsulfoxide solution, in which the best result ($P<0.05$) to 5.5mg (86.15% of male fries) could be verified. It could be concluded that dimethylsulfoxide does not damage the fish and the highest masculinization ratios are checked through immersion of 5.5mg of 17α -methyltestosterone.L⁻¹.

Key words: sex reversal, dimethylsulfoxide, bath immersion, *Oreochromis niloticus*, 17α -methyltestosterone.

Introdução

As tilápias são um grupo de peixes com grande potencial e importância para a aquicultura mundial (Stickney, 2000), principalmente no que diz respeito aos países tropicais e subtropicais (Campos-Ramos, *et al.*, 2003; Desprez *et al.*, 2003), como o Brasil, onde se acredita que metade da produção anual dos peixes cultivados seja proveniente da tilapicultura (Lovshin e Cyrino, 1998). Segundo El-Sayed (1999), mais de 22 espécies de tilápias são cultivadas no mundo. No entanto, as espécies do gênero

Oreochromis, em especial a *Oreochromis niloticus*, tem sido considerada a mais importante para as condições de cultivo. Isso se deve a sua rápida taxa de crescimento, à adaptabilidade, às diversas condições de cultivo e à alta aceitação pelo mercado consumidor (Meurer *et al.*, 2000; Meurer, 2002).

Apesar disso, devido as suas características de precocidade reprodutiva (Stickney, 2000), associada com as maiores taxas de crescimento dos machos (Kubitza, 2000), normalmente procura-se produzir populações monosssexuais masculinas (Penmam e

McAndrew, 2000; Beardmore *et al.*, 2001), a partir da suplementação dietética de andrógenos (MacIntosh e Little, 1995; Leonhardt, 1997), em especial o 17 α -metiltestosterona (Popma e Green, 1990; Phelps e Popma, 2000).

Além da suplementação dietética de hormônios para a reversão sexual de tilápias, podem ser empregadas outras metodologias, não tão amplamente utilizadas em escala comercial, tal como a imersão de larvas em solução contendo andrógenos. Segundo Popma e Phelps (1998), apesar dessa técnica ser utilizada em espécies de peixes de clima temperado, na tilapicultura é empregada apenas experimentalmente. Essa pode ser uma técnica alternativa e vantajosa com relação aos problemas de ineficiência dos tratamentos, devido a fatores que influenciam na taxa de obtenção de ração (fatores ambientais e hierarquias sociais) (Gale *et al.*, 1999), além de apresentar um menor nível de intervenção (combinação entre dosagem e tempo de exposição), menor custo de aplicação (Pandian e Sheela, 1995), menor tempo de exposição do funcionário ao hormônio e de ser, ambientalmente, mais seguro por possibilitar o armazenamento do resíduo para posterior degradação (Specker e Chandlee, 2003).

Experimentos desse gênero têm sido desenvolvidos desde 1965 (Phelps e Popma, 2000), utilizando diversas espécies, sendo as principais os salmonídeos *Oncorhynchus kisutch* (Goetz *et al.*, 1979; Piferrer e Donaldson, 1989; Piferrer e Donaldson, 1991), *Oncorhynchus tshawytscha* (Piferrer *et al.*, 1993); truta arco-íris (Fiest *et al.*, 1995) e tilápias *Sarotherodon mossambicus* (Billy e Liley, 1985); *Oreochromis aureus* (Torrans *et al.*, 1988) e *Oreochromis niloticus* (Apple e Lebouté, 1995; Fitzpatrick *et al.* 1997; Gale *et al.*, 1999; Wassermann *et al.*, 2000).

Nesses tratamentos, especialmente em espécies de peixes de água doce, a principal forma de absorção das drogas ocorre pela epiderme e/ou pelas brânquias (Piferrer, 2001). Devido a esse fato, a utilização de veículos de diluição e de absorção adequados para os andrógenos utilizados, torna-se indispensável. O dimetilsulfóxido (DMSO), já utilizado por outros autores (Tachibana *et al.*, 2000) em tratamentos de reversão sexual por suplementação dietética, pode ser um bom solvente ou veículo de diluição do hormônio, empregado nos métodos de imersão (Torrans *et al.*, 1988; Specker e Chandlee, 2003). Isso pode ser verdadeiro, quando se considerar o seu grande emprego na indústria farmacêutica como veículo de preparações cutâneas, visto que apresenta as características de aumentar a penetração e a absorção cutânea de drogas, aumentando, assim, a eficiência dos medicamentos (Pristo *et al.*, 1990).

O presente trabalho consistiu de dois ensaios com objetivos de determinar a concentração de DMSO em banhos de imersão, que não fosse prejudicial às larvas

de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), e avaliar o efeito de diferentes dosagem hormonais sobre as taxas de masculinização e desempenho zootécnico quanto ao peso e ao comprimento final médio, fator de condição final e sobrevivência das larvas, utilizando o nível de dimetilsulfóxido.

Material e métodos

O presente experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Aqüicultura do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá - DBI/UEM, Estado do Paraná. Foram realizados dois ensaios: o primeiro avaliou o tratamento de imersão de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em solução contendo diferentes concentrações do solvente DMSO; e o segundo avaliou a reversão sexual por imersão das larvas em solução de diferentes concentrações do andrógeno 17 α metiltestosterona diluído em dimetilsulfóxido.

No primeiro ensaio utilizaram-se 1800 larvas de tilápia do Nilo, provenientes de diversas proles de um mesmo lote de reprodutores, apresentando idade correspondente a seis dias após a eclosão (DPE). Essas larvas foram alojadas em 36 recipientes plásticos, com volume útil de 0,5L, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado composto por seis tratamentos e seis repetições. Foi considerada como uma unidade experimental, um recipiente plástico, contendo 0,5L de solução e 50 larvas. Os tratamentos constituíram-se na exposição das larvas às concentrações de 0%; 0,04%; 0,1%; 0,3%; 0,7%; 1,0% de DMSO por um período de 36 horas.

Durante os tratamentos de imersão, as unidades experimentais receberam aeração por contato para possibilitar a constante homogeneização da solução (Gale *et al.*, 1999), além de evitar a hipóxia. Essas unidades foram mantidas em um reservatório de água com aproximadamente 400L, em forma de banheira, a fim de permitir a homogeneização da temperatura entre as unidades experimentais. Esse reservatório possuía um sistema de aquecimento por resistência elétrica de 2.000W ligada a um termostato, mantendo-se a temperatura média de $26,6 \pm 1^\circ\text{C}$. Durante os tratamentos, a temperatura foi aferida a partir de um termômetro de máxima e mínima, com escala de precisão de 1°C . Ao final do período experimental, as larvas foram retiradas da solução contendo DMSO e mantidas por 48 horas em água limpa para posterior avaliação da sobrevivência.

No segundo ensaio foram utilizadas 1.200 larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com a idade de seis DPE. Inicialmente, foi retirada uma amostra de 100 larvas para a determinação do parâmetro zootécnico de peso e comprimento inicial médio. Os animais foram alojados em recipientes

plásticos para sofrerem os tratamentos hormonais, sendo distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Foi considerada como uma unidade experimental um recipiente plástico, contendo um volume útil de solução de 0,5L e 50 larvas em cada. Os tratamentos constituíram-se na exposição das larvas às concentrações hormonais de 0,5; 1,5; 2,5; 3,5; 4,5; 5,5mg de 17α -metiltestosterona.L⁻¹ de solução, por um período de 36 horas.

A aeração e a disposição das unidades experimentais foram realizadas da mesma forma que no primeiro ensaio.

Após os banhos de imersão, durante a alevinagem, as larvas foram transferidas para 24 gaiolas ou “hapas” de malha de 1,0mm e dimensões de 0,4m X 0,5m X 0,6m, as quais foram alojadas dentro de quatro caixas de fibro-cimento de volume de 1.000L. Nesse momento, os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos, inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos em quatro repetições. Foi considerada como uma unidade experimental um “hapa”, contendo 50 larvas e os blocos constituídos por uma caixa de fibro-cimento de volume útil de 1.000L, contendo 6 unidades experimentais, referente a cada tratamento.

Os “hapas” utilizados nesta fase receberam, individualmente e durante todo o cultivo, aeração por contato, e as caixas de 1.000L circulação constante de água, proporcionando uma taxa de renovação de aproximadamente 20% do volume total ao dia.

Durante a alevinagem, os animais foram cultivados até atingirem o comprimento padrão mínimo de 2,5cm. As larvas foram alimentadas, diariamente, a uma frequência de arraçoamento de cinco vezes ao dia (Sanches e Hayashi, 2001), com uma ração (Tabela 1) farelada (Meurer *et al.*, 2003), atendendo às exigências nutricionais da espécie segundo Hayashi *et al.* (2002), com 38,5% de proteína digestível e 3800kcal de energia digestível. Os alimentos utilizados na formulação da ração foram processados de acordo com Hayashi *et al.* (1999).

Tabela 1. Composição percentual da ração prática utilizada durante a fase de alevinagem.

Alimentos	Quantidade (%)
Farinha de vísceras ¹	54,63
Farelo de soja ²	19,15
Levedura <i>spray dried</i> ¹	6,00
Milho ²	7,68
Óleo de soja ²	10,02
Suplemento (min + vit)	2,00
Sal	0,50
Antioxidante BHT	0,02

¹ De acordo com os valores de Meurer (2002). ² De acordo com os valores de Boscolo *et al.* (2002).

A temperatura das caixas foi controlada durante o período de cultivo pela utilização de resistências elétricas, de modo a manter esse parâmetro por volta

de 27°C, evitando assim problemas que pudessem mascarar os resultados, como a masculinização devido à exposição a altas temperaturas (Chardard *et al.*, 1995; Desprez e Mélard, 1998; Baras *et al.*, 2000, 2001; Baroiller *et al.*, 2000; Baroiller e D’Cotta, 2001). Diariamente, pela manhã e pela tarde, foi mensurada amplitude térmica (°C) com um termômetro de mercúrio com escala de precisão de 1°C. Ainda diariamente, pela tarde (16h 30min) foi realizada a sifonagem das caixas e da tela dos “hapas”, para a retirada das excretas e restos de alimento. Semanalmente, foram mensurados os demais parâmetros físico-químicos da água, como oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹), condutividade elétrica (μ S.cm⁻¹) e pH, sempre antes da sifonagem.

Ao término do experimento, os alevinos foram dessensibilizados e sacrificados por choque térmico a aproximadamente 2°C, para mensuração dos parâmetros zootécnicos de peso (g) e comprimento (mm) final; fator de condição e sobrevivência (%). Em seguida, os animais foram fixados em solução de formalina a 10%, para posterior análise microscópica, das gônadas coradas, segundo a técnica descrita por Popma e Green (1990), para a determinação da proporção sexual existente nos tratamentos.

Os valores dos parâmetros obtidos nos dois ensaios foram submetidos à análise de variância, a 5% de probabilidade. Nos casos que apresentaram diferença estatística, foi aplicada a análise de regressão pelo programa Sistema de Análise Estatística e Genética (SAEG), descrito por UFV (1997).

Resultados e discussão

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica durante o período experimental foram de $27,02 \pm 1,40^\circ\text{C}$; $7,33 \pm 0,37$; $6,16 \pm 1,14\text{mg.L}^{-1}$; $0,16 \pm 0,01\mu\text{S.cm}^{-1}$, respectivamente. Tais valores mantiveram-se dentro dos limites considerados adequados para o cultivo de peixes (Boyd, 1990; Sipauba-Tavares, 1995).

Os resultados de sobrevivência referentes ao primeiro ensaio não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos e variaram entre 94,5 e 98% (Tabela 2), sugerindo que o DMSO não demonstrou nenhum efeito deletério aos animais. Assim, utilizou-se, no segundo ensaio, a menor concentração de DMSO (0,04%) para realizar os banhos, tendo em vista maior economia de solvente.

Tabela 2. Resultados de sobrevivência das larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas aos banhos de imersão em diferentes concentrações de dimetilsulfóxido (DMSO).

Resultados	Concentrações de DMSO (%)						
	0,00	0,04	0,10	0,30	0,70	1,00	CV
Sobrevivência (%)	95	94,5	98	94,5	94,5	94,5	7,99 ^{ns}

^{ns} Dados sem diferença significativa a 5% de probabilidade.

Os resultados de proporção sexual, desempenho e sobrevivência dos animais submetidos ao ensaio estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios de desempenho zootécnico e percentual de machos, de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetidas a banhos de imersão em diferentes concentrações hormonais.

Resultados	Concentrações hormonais (mg 17 α -metiltestosterona.L ⁻¹ de solução)						CV
	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5	
Peso inicial médio (g)	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011
Peso final médio (g) ¹	1,520	1,800	1,664	1,500	1,550	1,483	7,3*
Comprimento inicial médio (mm)	9,53	9,53	9,53	9,53	9,53	9,53	
Comprimento final médio (mm)	33,77	35,71	34,98	34,51	34,52	34,39	3,3 ^{ns}
Fator de condição final ²	0,040	0,040	0,039	0,036	0,038	0,037	6,3*
Sobrevivência (%)	96,00	90,50	89,50	96,00	91,00	91,50	7,1 ^{ns}
Porcentagem de machos (%) ³	78,41	81,86	80,09	79,96	85,86	86,15	5,7*
Porcentagem de fêmeas (%) ⁴	15,82	13,40	17,30	15,32	9,82	9,96	30,16*
Porcentagem de intersexuais (%)	5,77	4,74	2,61	4,73	4,33	3,89	72,2 ^{ns}

* Dados com diferença significativa a 5% de probabilidade; ^{ns} Dados sem diferença significativa a 5% de probabilidade; ¹ $y=1,6797-0,313525x10^{-3}x$, $r^2=0,23$; ² $y=0,04010793-0,04010793x10^{-3}x$, $r^2=0,78$; ³ $y=77,7235+0,144393x10^{-3}x$, $r^2=0,69$; ⁴ $y=17,2048-0,120123x10^{-3}x$, $r^2=0,51$.

O percentual de machos apresentou diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos, com as médias variando de 78,41 a 86,15%, com melhores resultados verificados na dosagem de 5,5mg 17 α -metiltestosterona.L⁻¹. Esses resultados também mostram uma relação linear positiva ($p<0,05$) entre os índices de masculinização e as dosagens hormonais utilizadas. Apesar disso, novos experimentos utilizando dosagens hormonais superiores às do presente trabalho, provavelmente, indicarão um comportamento quadrático dos resultados, ou seja, taxas de masculinização crescentes em função da dosagem hormonal até atingir um ponto de máxima masculinização, seguidas então de taxas decrescentes. Esse comportamento quadrático, chamado de “efeito paradoxal de feminização”, tem sido evidenciado por outros autores e parece ocorrer devido ao processo de aromatização, pela enzima aromatase, do excesso dos andrógenos exógenos administrados aos animais (Piferrer e Donaldson, 1991). Tal efeito de dose dependência sobre a masculinização, em *Oncorhynchus tshawytscha*, submetidos a banhos de imersão com 17 α -metiltestosterona, foi também verificado por Piferrer *et al.* (1993).

O percentual de fêmeas também apresentou diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos, com suas médias variando entre 9,82 e 17,30%. Ao contrário dos índices de masculinização, esses resultados mostram uma relação linear negativa entre os percentuais de fêmeas e as dosagens hormonais ($p<0,05$).

Os índices de indivíduos intersexuais não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos.

Resultados de masculinização semelhantes aos determinados no presente experimento foram evidenciados por Torrains *et al.* (1988), em *Oreochromis aureus*, submetidas a banhos de imersão

com o andrógeno mibolerona (MI) por 5 semanas. Esses autores verificaram as melhores taxas de masculinização (82,8 e 82,0%) quando os animais foram tratados com 1,0 e 0,6ppm de MI+1,7ppm de DMSO, respectivamente. Gale *et al.* (1999), utilizando o 17 α -metiltestosterona em banhos de imersão de larvas de *Oreochromis niloticus*, verificaram taxas de masculinização de 83% com a concentração de 0,1mg de 17 α -metiltestosterona.L⁻¹. Uma possível explicação para a obtenção de tais resultados, com dosagens hormonais muito inferiores às utilizadas no presente experimento, pode ser devido ao fato de que estes autores utilizaram larvas em estágios ontogênicos diferentes (10 e 13 dias após a fertilização) daqueles deste experimento, estágio este possivelmente mais sensível aos tratamentos hormonais.

Nesse sentido, possivelmente os índices de masculinização obtidos neste experimento não foram melhores devido ao desconhecimento do período ontogênico de maior sensibilidade da espécie aos tratamentos, visto que este é de fundamental importância para a máxima eficiência dos tratamentos hormonais (Piferrer e Donaldson, 1993; Pandian e Sheela, 1995). O período de maior sensibilidade é característico para cada espécie, tendo sido determinado para o *Dicentrarchus labrax* L (Blázquez *et al.*, 1995), *Oncorhynchus mykiss* (Krisfalusi e Nagler, 2000), *Oryzias latipes* (Koger *et al.*, 2000) e *Oncorhynchus kisutch* (Piferrer e Donaldson, 1989).

Os resultados de peso final médio e fator de condição final apresentaram diferença ($p<0,05$) entre os tratamentos. Esses resultados demonstraram, ao contrário da porcentagem de machos, uma relação linear negativa com relação às dosagens hormonais ($p<0,05$). No entanto, novos experimentos utilizando dosagens hormonais inferiores podem demonstrar um efeito quadrático para a variável peso.

Os resultados de peso final, verificados no presente experimento, são contrários às evidências de Piferrer e Donaldson (1991), que verificaram aumento de peso em grupos tratados com doses acima de 0,4mg de 17 α -metiltestosterona.L⁻¹, efeito esse atribuído à atividade anabólica desse andrógeno. Guerrero (1975) verificou resultados semelhantes em *Oreochromis niloticus*, tratadas com o mesmo hormônio incorporado na ração, logo larvas da mesma espécie, quando tratadas com o andrógeno dihidrotestosterona apresentaram uma redução nas taxas de crescimento com o aumento das dosagens hormonais.

Os resultados do presente experimento, contudo, estão de acordo com os de Torrains *et al.* (1988), que, em banhos de imersão de *Oreochromis spilurus*, obtiveram efeito negativo semelhante com relação ao peso final. Phelps *et al.* (1992), estudando o efeito

androgênico e anabólico do andrógeno fluoximesterona incorporado à ração, de forma semelhante, verificaram uma redução nas taxas de crescimento dos animais submetidos aos tratamentos com altas dosagens hormonais. Por outro lado, Ridha e Lone (1990) não verificaram diferença significativa no peso final de larvas de *Oreochromis spilurus*, em função dos tratamentos hormonais com o 17 α -metiltestosterona incorporado na ração.

Os resultados de comprimento final e sobrevivência não apresentaram diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos.

Os resultados de sobrevivência estão de acordo com os de Goetz *et al.* (1979) e Gale *et al.* (1999), os quais afirmaram que os tratamentos de imersão não afetaram a sobrevivência em *Oncorhynchus kisutch* e *Oreochromis niloticus*, respectivamente. Por outro lado, discordam daqueles de Torrans *et al.* (1988) em que verificaram que a sobrevivência em relação ao aumento das concentrações do andrógeno mibolona, em banhos de imersão foi inversamente correlacionada e a redução da taxa de sobrevivência foi atribuída apenas à toxidez do hormônio e não ao DMSO.

Conclusão

Os tratamentos de reversão sexual por banhos de imersão, utilizando o dimetilsulfóxido, não afetam a sobrevivência das larvas de tilápia do Nilo. Apresentaram, contudo, resposta negativa quanto ao peso final médio e ao fator de condição médio, em função do aumento das dosagens hormonais. Por outro lado, as taxas de masculinização atestaram uma resposta linear positiva com o aumento das dosagens hormonais, apresentando os melhores resultados com 5,5mg 17 α -metiltestosterona.L⁻¹, com 86,15% de machos.

Referências

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 UFRGS, 1995. p. 113 - 119.

BARAS, E. *et al.* Phenotypic sex differentiation of blue tilapia under constant and fluctuating thermal regimes and its adaptive and evolutionary implications. *J. Fish Biol.*, London, v. 57, p.210-223, 2000.

BARAS, E. *et al.* Effects of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX - XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 192, p.187-199, 2001.

BAROILLER, J. F. *et al.* Genetic and environmental sex determination in tilapias: a review. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: AMERICAN TILAPIA ASSOCIATION, 2000. p. 81.

BAROILLER, J. F.; D'COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. *Comp. Biochem. Physiol. C*, Oxford, v. 130, p.399-409, 2001.

BEARDMORE, J. A. *et al.* Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. *Aquaculture*, Amsterdam, 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). *Horm. Behav.*, Orlando, v. 19, n. 3, p. 311 - 330, 1985.

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

BOSCOLO, W. R. *et al.* Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para o tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 539-545, 2002.

BOYD, C. E. *Water Quality in Ponds for Auaculture*. Alabama: Birmingham Publishing Co, 1990.

CAMPOS - RAMOS, R. *et al.* A invetigation of sex determination in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, FISH, sex reversal and gynogenesis. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 221, p. 125 - 140, 2003.

CHARDARD, D. *et al.* Aromatase activity in larval gonads of pleurodeles waltl (*Urodele amphibia*) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment effect. *Gen. Comp. Endocrinol.*, Orlando, v.99, n.1, p.100-107, 1995.

DESPREZ, D.; MÉLARD, C. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.162, p.79 - 84, 1998.

DESPREZ, D. *et al.* Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11 β - hydroxyandrostenedione (11 β OHA4), in Florida red tilapia. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 216, p. 55 - 65, 2003.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 179, p. 149-168, 1999.

FIEST, G. *et al.* The production of functional sex - reversed male rainbow trout with 17 α - metiltestosterone and 11 β - hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 131, p. 145 - 152, 1995.

FITZPATRICK, M. S. *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, 7., 1997, Seattle. *Anais...* Seattle: WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1997. p. 158.

GALE, W. L. *et al.* Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture*, Amsterdam, v.178, p.349 - 357, 1999.

GOETZ, F. W. *et al.* Effects of estradiol 17 β and 17 α methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.17, p.267 - 278, 1979.

- GUERRERO, R. D. Use of androgens for production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans. Am. Fish. Soc.*, Bethesda, v. 104, n. 2, p.342-348, 1975.
- HAYASHI, C. *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*, Maringá, v.21, n.3, p.733-737, 1999.
- HAYASHI, C. *et al.* Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 823 - 829, 2002.
- KOGER, C. S. *et al.* Determining the sensitive developmental stages of intersex induction in medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 beta - estradiol or testosterone. *Mar. Environ. Res.*, Kidlington, 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. *Mol. Reprod. Dev.*, Hamburg, v.56, n. 4, p. 495 - 501, 2000.
- KUBITZA, F. *Tilápia - tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Divisão de biblioteca e documentação, 2000.
- LEONHARDT, J. H. *Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757)*. 1997. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Setor de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 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: CBNA, 1998. p. 1-20.
- MACINTOSCH, D. J.; LITTLE, D. C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J. *Broodstock management and egg and larval quality*. London: Blackwell Science Ltd, 1995. cap. 12, 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*. 2002. Tese (Mestrado) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- MEURER, F. *et al.* Utilização de levedura spray dried na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Scientiarum*, Maringá, v.22, n.4, p.479-484, 2000.
- MEURER, F. *et al.* Influência do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da tilápia do Nilo durante a reversão sexual. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, p. 262-267, 2003.
- PANDIAN, T. J.; SHEELA, S. G. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, Amsterdam, v.138, p.1-22, 1995.
- PENMAN, D. J.; MCANDREW, B. J. Restraint. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MCANDREW, B. J. *Tilapias: Biology and Exploitation*. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. cap. 7, p. 227 - 266.
- PHELPS, R. P.; POPMA, T. J. Sex reversal of tilapia. In: COSTA - PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. *Tilapia Aquaculture in the Americas - volume two*. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 2000. cap. 2, p. 21 - 33.
- TACHIBANA, L. *et al.* Influência do dimetilsulfóxido (DMSO) na reversão sexual de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratadas com 17 α metiltestosterona. In: AQUICULTURA BRASIL, 11., 2000, Florianópolis. *Anais (CD-ROOM) ...* Florianópolis: ABRAQ, 2000. p. 147.
- TORRANS, L. *et al.* Sex - reversal of *Oreochromis aureus* PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 197, p. 229 - 281, 2001.
- PIFERRER, F.; DONALDSON, E. M. Dosage - dependent differences in the effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the resulting phenotype of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Fish Physiol. Biochem.*, Dordrecht, 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*, Amsterdam, v.77, p. 251 - 262, 1989.
- PIFERRER, F.; DONALDSON, E. M. Sex control in pacific salmon. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R. J. *Recent advances in aquaculture IV*. London: Blackwell Scientific Publications, 1993. cap. I.2.a, p.69-77.
- PHELPS, R. P. *et al.* Effect of fluoxymesterone on sex ration and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v. 23, p. 405-410, 1992.
- PIFERRER, F. *et al.* Effects of natural, synthetic, aromatizable, and nonaromatizable androgens in male sex differentiation in genotypic female chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, Orlando, v. 91, n. 1, p. 59 - 65, 1993
- POPMA, T. J.; GREEN, B. W. Aquacultural production manual: sex reversal of tilapia in earthen ponds. *Res. Dev. Se.*, Alabama, v.35, p.1 - 15, 1990.
- 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: ABRAQ, 1998. p. 127-145.
- PRISTO, L. N *et al.* *Técnica Farmacêutica e Farmácia Galéica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990.
- RIDHA, T.; LONE, K. P. Effect of oral different levels of 17 α -metiltestosterone on the sex reversal, growth and food conversion efficiency of the tilapia *Oreochromis spilurus* (Gunther) in brackish water. *Aquacult. Fish. Manag.*, Oxford, v. 21, p. 391 -397, 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*, Maringá, v.23, n.4, p.871-876, 2001.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. S. *Limnologia aplicada à Aquicultura*. Jaboticabal: Finep, 1995.
- SPECKER, J. L.; CHANDLEE, M. K. Methodology for estradiol treatment in marine larval and juvenile fish: uptake and clearance in summer flounder. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 217, p. 663 - 672, 2003.
- STICKNEY, R. R. Status of research on tilápia. In: COSTA - PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. *Tilapia Aquaculture in the Americas - volume two*. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 2000. cap. 2, p. 21 - 33.

by immersion in Mibolerone, a synthetic steroid. *Journal of the World Aquacult. Soc.*, Baton Rouge, v. 19, n. 3, p. 97 - 102, 1988.

UFV-UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas - Versão, 7.1. Viçosa: UFV, 1997.

WASSERMANN, G. J. *et al.* Masculinização de larvas de

tilápia do nilótica (*Oreochromis niloticus*), usando andrógenos, através de banhos de imersão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. *Anais* (CD-ROOM)... Viçosa: SBZ, 2000.

Received on June 27, 2003.

Accepted on February 05, 2004.