

LUIZ CARLOS GUILHERME

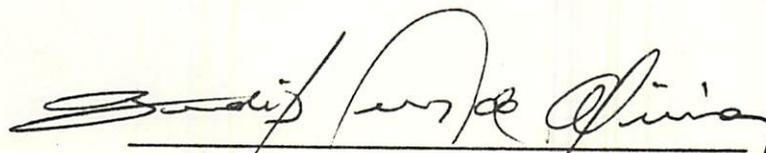
EFEITOS DA MESTEROLONA (17-BETA - HIDROXI - 1ALFA -
METIL - 5 - ALFA - ANDROSTAN - 3 - ONA) NA INVERSÃO
DO SEXO EM *Oreochromis niloticus*

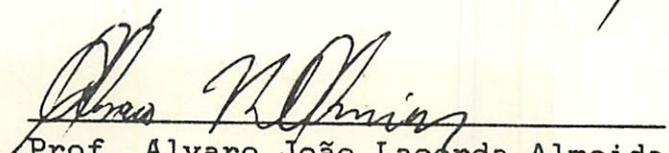
Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Zootecnia, para obtenção do grau de Magister Scientiae.

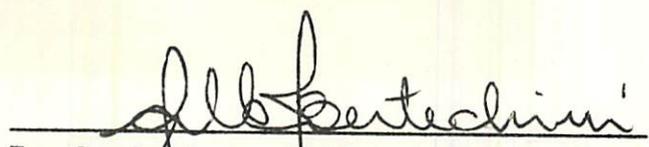
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS
1990

EFEITOS DA MESTEROLONA (17- β -HIDROXI-1 α -METIL-5 α -ANDROSTAN-3-
ONA) NA INVERSAO DO SEXO EM *Oreochromis niloticus*

Aprovada:


Prof. Benedito Lemos de Oliveira
Orientador


Prof. Alvaro João Lacerda Almeida
Conselheiro


Prof. Antônio Gilberto Bertechini
Conselheiro

DEDICO ESTE TRABALHO

A meus pais por me moldarem o caráter;
A meus irmãos pela constante amizade;
A minha esposa e filhos pela dedicação e
carinho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Luiz Carlos Guilherme, filho de João Guilherme e Iolanda Ferreira Guilherme, nasceu em Belo Horizonte - MG, aos 29 dias de dezembro de 1955.

Realizou seus estudos de 1º grau no Grupo Escolar Silviano Brandão (B. Horizonte - MG), concluindo o 2º grau (Técnico em Contabilidade), no Colégio Comercial da Associação dos Empregados do Comércio - A.E.C. (B. Horizonte - MG).

Ingressou em julho de 1975, no curso de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura de Lavras - MG, graduando-se Zootecnista em 1980.

Em fevereiro de 1982, foi contratado pela antiga SUDEPE - Superintendência do Desenvolvimento da Pesca, atual IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, ficando responsável pelos trabalhos e Cursos de Piscicultura, desenvolvidos na Estação de Piscicultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras.

Em abril de 1988, foi designado para assumir a direção da Estação de Aquicultura da ex-SUDEPE em Uberlândia - MG.

No 1º semestre de 1985, iniciou o Curso de Mestrado em Zootecnia, na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL.

Atualmente dedica-se à iniciativa privada, após criar e dirigir a Empresa de Aqüicultura Guilherme Ltda. - EMAG, com sede em Uberlândia - MG.

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura de Lavras, em especial ao Departamento de Zootecnia.

Em especial aos professores Benedito Lemos de Oliveira, Marco Laureano Teixeira, Luiz Henrique de Aquino e Luiz Carneiro de Freitas Girão, pela constante disposição e auxílio.

Aos amigos José Eduardo M. Rezende, Beatriz Maciel Tavares, João Mário Vieira e Eleci Pereira, pela solidariedade.

A Dra Hêmima Mattar Alvarenga, pelos bons momentos de discussão sobre o assunto.

Ao prof. Hugo Pereira Godinho e Bibliotecária Elenice Beck Banin pela grande colaboração durante o andamento dos trabalhos.

A todos cujos nomes não aparecem mas que direta ou indiretamente tornaram possível esta realização.

SUMARIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Localização.....	12
3.2. Delineamento experimental.....	12
3.3. Animais, instalações e manejo.....	13
3.4. Amostragens.....	20
3.5. Tratamentos experimentais.....	20
3.6. Análise da água.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Características da água e do ar durante a primeira fase experimental.....	25
4.2. Identificação dos sexos e proporção sexual.....	29
4.3. Sobrevivência.....	36
4.4. Crescimento.....	37
5. CONCLUSOES.....	38
6. RESUMO.....	40
7. SUMMARY.....	42
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	44
APENDICE.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Representação das estruturas moleculares dos andrógenos utilizados em inversão sexual.....	4
2	Selecionadores de pós-larvas.....	15
3	Vista parcial das instalações no interior do Laboratório de Piscicultura - ESAL.....	18
4	Detalhes de uma parcela experimental destacando comedouro e entrada d'água.....	17
5	Instalação das gaiolas em tanque de terra - ESAL.	18
6	Vista parcial das gaiolas em tanque de terra. Destaque: flutuadores.....	19
7	Comparações entre as médias das oscilações diárias da temperatura da água nos períodos de manhã e tarde durante a primeira fase experimental.....	28
8	Comparações entre as oscilações diárias da temperatura do ar nos períodos de manhã e tarde durante a primeira fase experimental.....	28
9	Concentrações médias diárias do oxigênio dissolvido durante a primeira fase experimental.....	28
10	Variação média do pH durante a primeira fase experimental.....	28
11	Proporção sexual em função dos níveis de mesteronona na dieta.....	35

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Resumo dos primeiros trabalhos sobre inversão sexual em peixes.....	8
2	Resumo dos trabalhos sobre inversão sexual em tilápias.....	9
3	Composição bromatológica dos ingredientes utilizados na preparação da dieta experimental.....	21
4	Composição percentual da ração básica utilizada no experimento.....	21
5	Composição do suplemento mineral empregado no experimento segundo JAUNCEY & ROSS (1982).....	22
6	Composição do suplemento vitamínico utilizado nas rações do experimento segundo JAUNCEY & ROSS (1982).....	23
7	Parâmetros de qualidade da água.....	24
8	Resultados (%) da sexagem com exame de campo em microscópio ótico das gônadas dos peixes ao final da segunda fase.....	31
9	Resultados (%) da sexagem visual da papila urogenital dos peixes ao final da segunda fase.....	32
10	Sobrevivência média dos peixes e média do crescimento (mm) no final da primeira e segunda fase...	37
11	Análise de variância dos resultados experimentais	49

1. INTRODUÇÃO

A tilápia pertencente à família *Cichlidae* é um peixe que tem sido intensamente utilizado na piscicultura mundial. Os peixes desta família apresentam ótimas qualidades para produção piscícola sendo destacados: seu rápido crescimento; utilização como alimento de vários tipos de resíduos agropecuários de origem animal e vegetal; ótima qualidade da carne; resistência ao manejo e a doenças. Como única desvantagem apresentam uma grande prolificidade que resulta em casos frequentes de nanismo dos peixes quando o cultivo dos mesmos é feito sem controle.

Mundialmente, vários trabalhos foram conduzidos para solucionar o problema de reprodução nos tanques resultando nos métodos a seguir: Seleção manual e visual através das diferenças existentes na papila genital de machos e fêmeas; Uso de predadores para o controle de desovas em casos de falhas do método anterior; hibridação entre espécies diferentes com o objetivo de se produzir peixes de um só sexo; inversão sexual por meio de hormônios esteroides para controle do sexo e formação de linhagens.

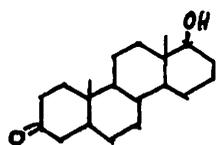
As primeiras experiências indicando a possibilidade de se promover a inversão sexual em peixes foram conduzidas por Padoa (1937), citado por YAMAMOTO (1969) em truta arco-iris *Salmo Gairdneri Irideus*. O autor conseguiu a produção de ova nos testículos de peixes machos que receberam injeções de hormônio folicular e ainda com o uso da testosterona induziu o aparecimento do tecido testicular em ovários. Contudo estas experiências foram conduzidas em alevinos cuja diferenciação sexual estava completada e não puderam ser consideradas como inversão propriamente.

Os alevinos de tilápia obtidos pelo método de inversão sexual reduziriam os problemas relacionados á produtividade, manutenção e criação de linhagens e manejo. A produção em massa de alevinos invertidos ainda não se tornou realidade no Brasil devido às dificuldades encontradas em se adquirir os hormônios utilizados internacionalmente. No entanto para que estes fatos se concretizem é necessário que se intensifique as investigações com a finalidade de se obter resultados consistentes que favoreçam a discussão e adoção da inversão sexual nas tilápias de uma maneira mais efetiva. Atualmente com a fabricação da mesterolona (17- β -hidroxi-1 α -metil-5 α -androstan-3-ona) (figura 1), no Brasil e por se tratar de um andrógeno de baixo custo é possível que se incremente a produção de alevinos.

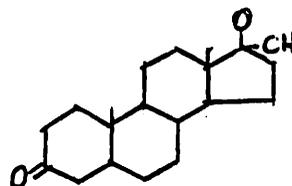
Neste trabalho objetivou-se:

1. Conhecer os efeitos do hormônio mesterolona sobre a inversão sexual de peixes fêmeas em machos;

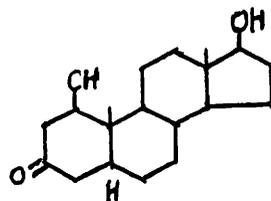
- 2 Identificar as dosagens mais eficientes para promoverem a inversão sexual;
- 3 Identificar o tamanho inicial dos peixes propicio ao início do tratamento para inversão;
4. Verificar o efeito do hormônio sobre o crescimento e sobrevivência dos peixes.



Testosterona



Methyltestosterona



Mesterolona

- 1/ - YAMAMOTO (1969)
- 2/ - ANDRIOL, s.d.

FIGURA 1. Representação das estruturas moleculares dos andrógenos utilizados em inversão sexual.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os estudos com resultados mais consistentes sobre inversão sexual em peixes foram conseguidos inicialmente na espécie *Oryzias latipes* por Yamamoto (1953-1958) citado por YAMAMOTO (1969) que obteve pela primeira vez a inversão funcional para fêmeas e machos com o uso da estrona e da methyltestosterona respectivamente. Estes resultados ainda possibilitaram o cruzamento entre indivíduos de mesmo sexo genético e propiciaram um melhor entendimento do mecanismo de diferenciação sexual dos peixes.

Embora consegue-se promover a inversão sexual nos peixes classificados por YAMAMOTO (1969) como gonocorísticos indiferenciados, cujas gônadas primárias podem originar os testículos ou ovários, no qual se inclui a tilápia, não se tem ainda determinada a sequência exata de eventos que ocorrem durante a inversão com o uso de substâncias externas. Contudo, a inversão sexual tem sido realizada graças ao conhecimento preciso dos esteróides sexuais tanto andrógenos como estrógenos e dos mecanismos de determinação sexual (gonocorismo e hermafroditismo) das espécies resumidas por YAMAZAKI (1983).

Os autores Clemens & Inslee (1968), são apontados por BETANCOURT (1988), como precursores da inversão em tilápias, porém, somente com os trabalhos de ANDERSON & SMITHERNAN (1978); SHELTON et alii (1978 e 1981) houve uma melhor descrição da técnica. A partir destes trabalhos ocorreu a adoção sistemática da inversão sexual nas criações piscícolas de todo o mundo.

▷ O alevino obtido pelo método da inversão sexual, por ser originário de uma única espécie, atenderia a curto prazo a demanda de alevinos de tilápia para engorda, bem como possibilitaria a médio prazo, a obtenção de linhagens homogaméticas que reduziriam substancialmente o manejo empregado nas estações de piscicultura. Com a utilização imediata da técnica de inversão sexual, estas linhagens poderão ser obtidas a partir de tilápias alteradas sexualmente com hormônios. A formação de um cardume do qual a tilápia monosexual possa ser produzida ou selecionada abre grandes perspectivas para a pesquisa além de colaborar no incremento das criações intensivas destes peixes (SHELTON (1978); MIREN (1983); WALLACE & SHELTON (1983); BUDLE (1984); HEPHER & PRUGININ, (1985); MERIWETHER & SHELTON (1985).

↳ A inversão sexual em várias espécies de peixes pode ser conseguida através do emprego de hormônios esteróides sintéticos com caráter estrogênico ou androgênico em tratamento por imersão em água com hormônio diluído ou ingestão com a dieta. Os hormônios esteróides são indutores normais para diferenciação sexual nos teleostes e já foi demonstrado que os andrógenos artificiais são mais potentes do que os naturais quando fornecidos com a dieta. Os

resultados encontrados na literatura apresentam semelhanças, quadros 1 e 2, com variações devido às substâncias empregadas, dosagens, duração dos ensaios e espécies estudadas; (YAMAMOTO (1969 1975), ANDERSON & SMITHERMAN (1978); HOPKINS et alii (1979); JENSEN et alii (1978); YAMAZAKI (1983)).

Ao contrário dos mamíferos e aves, onde respectivamente os machos ou as fêmeas são o sexo heterogamético, os peixes podem apresentar na mesma espécie tanto machos como fêmeas homo e heterogaméticos. A inversão sexual pode ser dirigida para o sexo masculino com a utilização de andrógenos e para o sexo feminino com o emprego de estrógenos. Contudo, o efeito feminilizante parece não apresentar resultados tão satisfatórios quanto os masculinizantes, sendo os melhores resultados em torno de 90% de fêmeas (YAMAMOTO (1975); JENSEN & SHELTON (1979); HOPKINS et alii (1979); REINBOTH (1982); YAMAZAKI (1983) e OBI & SHELTON (1983)).

O sexo das tilápias pode ser alterado fenotípica e funcionalmente com o uso de substâncias externas. No entanto AVTALION & HAMMERMAN (1978); demonstraram através da análise de diversos cruzamentos, que a sua determinação genética ocorre na fecundação sob a influência de três cromossomos sexuais (X, W e Y) e dois autossômicos (A e a). Os autores sugeriram ainda a possibilidade de se conseguir a combinação, através da inversão sexual, de cromossomos que resultem na formação do supermacho; peixe este que originaria linhagens de machos indiferente do tipo de fêmea que fosse empregada no cruzamento.

QUADRO 1 Resumo dos primeiros trabalhos sobre inversão sexual em peixes

AUTOR	ANO	ESPECIES	ESTEROIDES	DOSE Mg/g	RESULTADOS
Padoa	1937-1939	<i>Salmo irideus</i>	Injeções de hormônios foliculares do ovário e Testículo	-	Formação de óvulos e semen em machos e fêmeas respectivamente
Berkowitz	1938-1941	<i>Lebistes reticulatus</i>	Estrógenos	-	Formação de óvulos em machos
Okeda	1943	<i>Orizias latipes</i>	Estilbestrol (injeções subcutânea)	-	Produção de ovóctos em machos adultos
Yamamoto	1953-1958	<i>Orizias latipes</i>	19-Nor- ethynyltestosterona	1,0	Inversão sexual funcional em larvas para machos e fêmeas. Explicação do mecanismo genético. Introdução do teste de progênie para avaliação dos resultados.
			Fluoxymesterona	1,2	
			17 Ethnyltestosterona	3,4	
			Methylandrostenediol	7,8	
			Methyltestosterona	15	
			Androstenediona	500	
			Propionato de testosterona	560	
			Androsterona	580	
			Dehydroepiandrosterona	3200	
			Hexesterol	0,4	
			Euvestin	0,8	
			Ethynylestradiol	1,7	
			Estradiol-17B	5,8	
			Stilbestrol	7,5	
			Estrone	20	
			Estriol	130	

Fontes: YAMAMOTO (1969) e BETANCOURT (1988)

QUADRO 2 Resumo dos trabalhos sobre inversão sexual em tilápias.

AUTOR E ANO	ESPECIE	ESTEROIDE (Mg/Kg alimento)	DURAÇÃO APLI- CAÇÃO (dias)	RESULTADO % inversão
Clemens e Inslee 1968	<i>T. mossambica</i>	Metiltestosterona (30 e 60)	69	100
Nakamura I Takahashi 1973	<i>T. mossambica</i>	Metiltestosterona	60	100
Jalbert et alii 1974	<i>T. nilotica</i>	Metiltestosterona (40)	60	100
Guerrero 1975	<i>T. aurea</i>	Metiltestosterona (15-30-60)	21	85-96-100
Nakamura 1975	<i>T. mossambica</i>	Etinilestradiol (50)	10-25	100
Guerrero 1976	<i>T. mossambica</i>	Metiltestosterona (50)	14-21-28-40	69-93-98-100
Hopkins 1979	<i>T. aurea</i>	Etinilestradiol (25)	42	50
Jansen 1979	<i>T. aurea</i>	Estrona e 17-estradiol (30-60-120)	21-35	62-50-42
Shelton 1981	<i>T. aurea</i>	Metiltestosterona (60)	16-19-21-28	83-93-98-97
Owsu Frinpong 1981	<i>T. nilotica</i>	Metiltestosterona (50)	28-42	100
Macintosh 1985	<i>O. mossambica</i>	Metiltestosterona (30)	30-60	79-94
Quintero 1985	<i>O. mossambica</i>	Metiltestosterona	21	96-100

Fontes: BETANCOURT (1988)

DUTA (1981) demonstrou que a diferenciação dos ovários nas tilápias precede aos testículos, e é presumível que as células germinativas contidas nos ovários são em maior número do que nos testículos. Em truta arco-iris *Salmo gairdneri*, HURK & SLOF (1981), constataram a ocorrência da diferenciação gonadal entre 45 e 55 dias após a fertilização. Os melhores índices de inversão sexual em carpas *Cyprinus carpio* foram obtidos por NAGY et alii (1981), aos 40 e 80 dias após a desova. Estes fatos indicam ser variável o período de indeterminação do sexo fenotípico e mostram provavelmente quando o processo de inversão sexual poderá ser praticado com sucesso nas diversas espécies.

BACILA (1980), afirma que os andrógenos exercem dupla ação no organismo animal. Uma tipicamente androgênica, virilizante; outra é claramente metabólica, exercendo influência anabolizante sobre o metabolismo das proteínas.

↓ U.S.
O efeito anabolizante dos andrógenos é considerado vantajoso para as criações comerciais e foi destacado nos trabalhos de HANSON et alii (1983) que tiveram como objetivo realizar comparações entre seis populações de tilápias produzidas através da separação dos sexos, hibridação interespecífica e inversão sexual com engorda em tanques de concreto e gaiolas flutuantes, concluindo que após 88 dias as tilápias invertidas com andrógenos apresentaram crescimento superior aos outros grupos.

↓ U.S.
SHELTON et alii (1978), teceram considerações sobre a necessidade de se exercer um maior controle pelas autoridades que resguardam a saúde quanto ao consumo de peixes tratados com

hormônios e sugeriu a condução de ensaios específicos sobre o assunto. Trabalhando com estas dúvidas, ROTHBARD (1983), determinou o nível de testosterona no plasma de tilápias nilótica invertidas com cinco meses de idade e concluiu que os tratamentos com andrógenos não afetaram de qualquer modo o nível de testosterona nos peixes invertidos e que o nível mais baixo de hormônio encontrado nos animais tratados comparados com machos normais foi resultante da ausência de fêmeas no tanque dos peixes tratados e poderia estar correlacionado com o comportamento sexual próprio dos peixes. Estas considerações foram reforçadas por YARON et alii (1983) em estudos sobre a variação dos níveis de testosterona em tilápia nilótica, em que ocorreram oscilações semelhantes às encontradas por ROTHBARD (1983), e ainda que as flutuações ocorriam no mesmo peixe em função da temperatura da água e que os animais de um mesmo grupo apresentavam níveis diferentes indicando provavelmente uma hierarquia sexual territorial, sem contudo comprovar este fato.

¹⁹⁸³ Jonstone & Macintosh (1983) citados por BETANCOURT (1988), analisaram a distribuição corporal do hormônio, constatando que o mesmo se distribui por todo o corpo do peixe nas primeiras 8 a 12 horas após o consumo do andrógeno na dieta e que posteriormente se concentra nos tecidos das vísceras sendo eliminado completamente após 100 horas de sua aplicação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização

O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura de Lavras, no período de Janeiro a maio de 1988.

O município de Lavras localiza-se na Região do Sul do Estado de Minas Gerais, a uma altitude de 900 metros, tendo como coordenadas geográficas 21° 14' de latitude sul e 45°00' de longitude oeste de Greenwich.

3.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi semelhante a blocos casualizados, considerando dois tamanhos iniciais, cinco níveis de hormônio e quatro repetições.

A separação em blocos I e II foi possível com a utilização de peneiras com malhas de 1,5 mm para separação das pós-larvas com 9,81 mm e 2,0 mm para pós-larvas com 12,76 mm de comprimento total.

Estudou-se o efeito da mesterolona sobre a proporção sexual crescimento e sobrevivência dos peixes.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o pacote computacional SAEG (Sistema para Análises Estatísticas), segundo EUCLYDES (1983), no setor de Informática do Departamento de Zootecnia da ESAL.

3.3. Animais, instalações e manejo

Foram utilizadas pós-larvas de tilápia nilótica capturadas com rede de nylon com malha de 1 mm na superfície de um tanque preparado com reprodutores anteriormente. O experimento foi conduzido com 2000 pós-larvas previamente separadas em dois lotes de 1000 pós-larvas cada com comprimento total médio de 9,81 mm e 12 76 mm respectivamente. A separação foi realizada com o auxílio dos selecionadores de tela plástica e arame conforme figura 2. Cada um dos lotes foi subdividido em 20 parcelas de 50 pós-larvas constituindo-se em 40 parcelas experimentais.

A condução do experimento foi dividida em duas fases sendo a primeira com duração de 20 dias para aplicação dos tratamentos realizada no interior do laboratório de Piscicultura em bacias de plástico com capacidade de 15 litros adaptadas para receberem renovação constante de água (figuras 3 e 4). A segunda fase com duração de 88 dias foi conduzida com as pós-larvas sobreviventes no final da primeira fase confinadas em 40 gaiolas de 1,0m³

revestidas com tela mosquiteira de 1,0 mm de malha, instaladas em um tanque externo de 1200m² e 1,5m de profundidade média (figuras 5 e 6), com o único objetivo de se alcançar um tamanho adequado que permitisse avaliação da sexagem. Secundariamente avaliou-se o crescimento dos exemplares de cada parcela.

A água de abastecimento foi a mesma empregada na Estação para os tanques externos seguida de decantação das partículas sólidas.

Diariamente realizou-se a limpeza das bacias com sifonamento dos resíduos de alimentos e fezes.

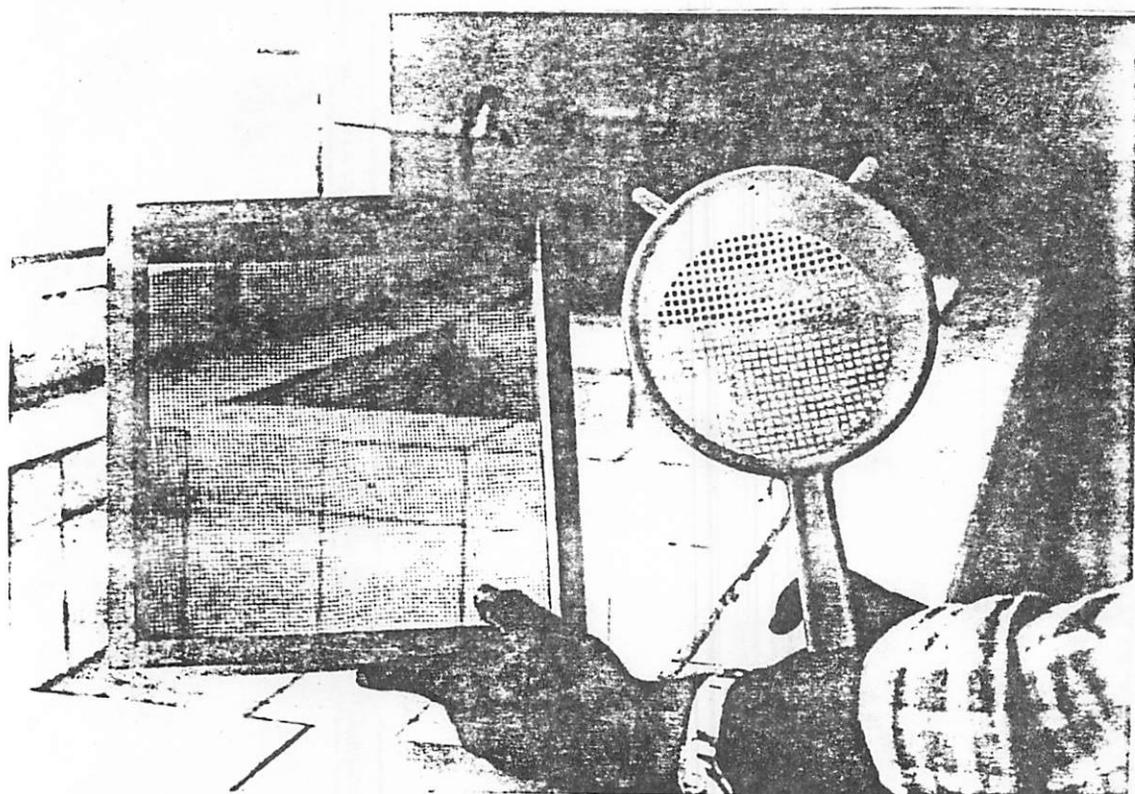


FIGURA 2. Seleccionadores de pós-larvas.

Malha de 1,5 mm (esquerda)

Malha de 2,0 mm (direita).

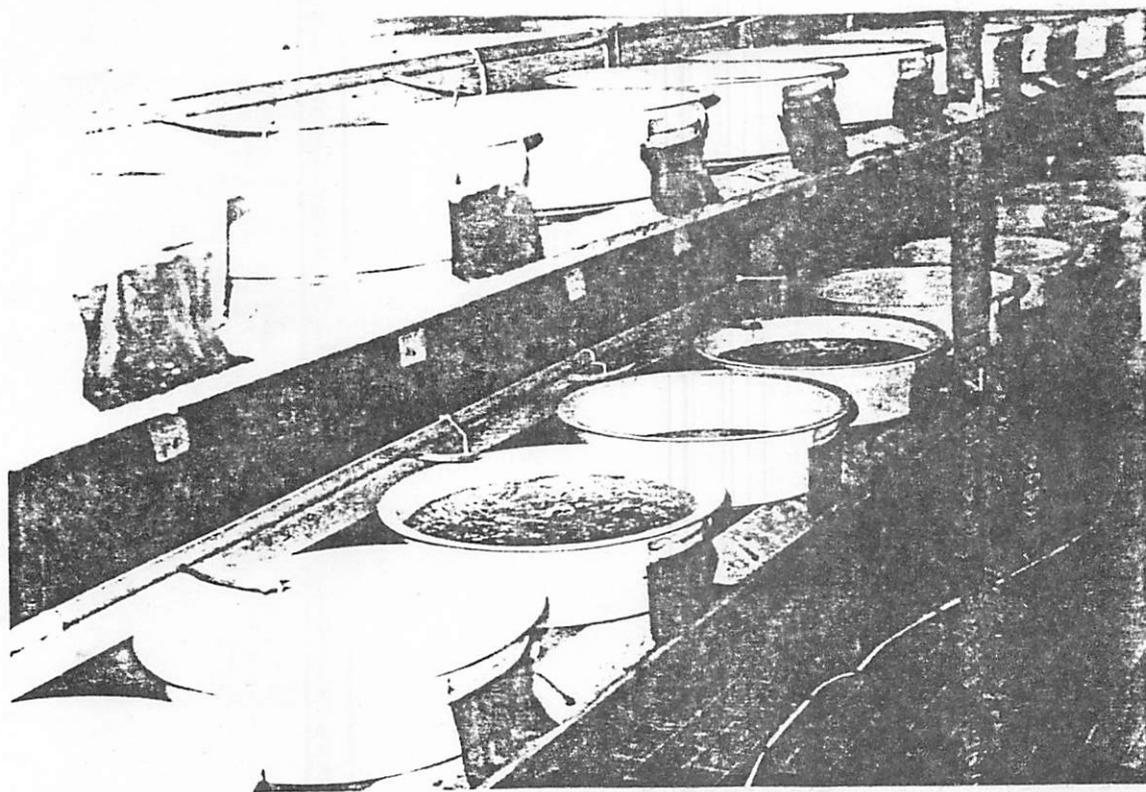


FIGURA 3. Vista parcial das instalações no interior do Laboratório de Piscicultura - ESAL.

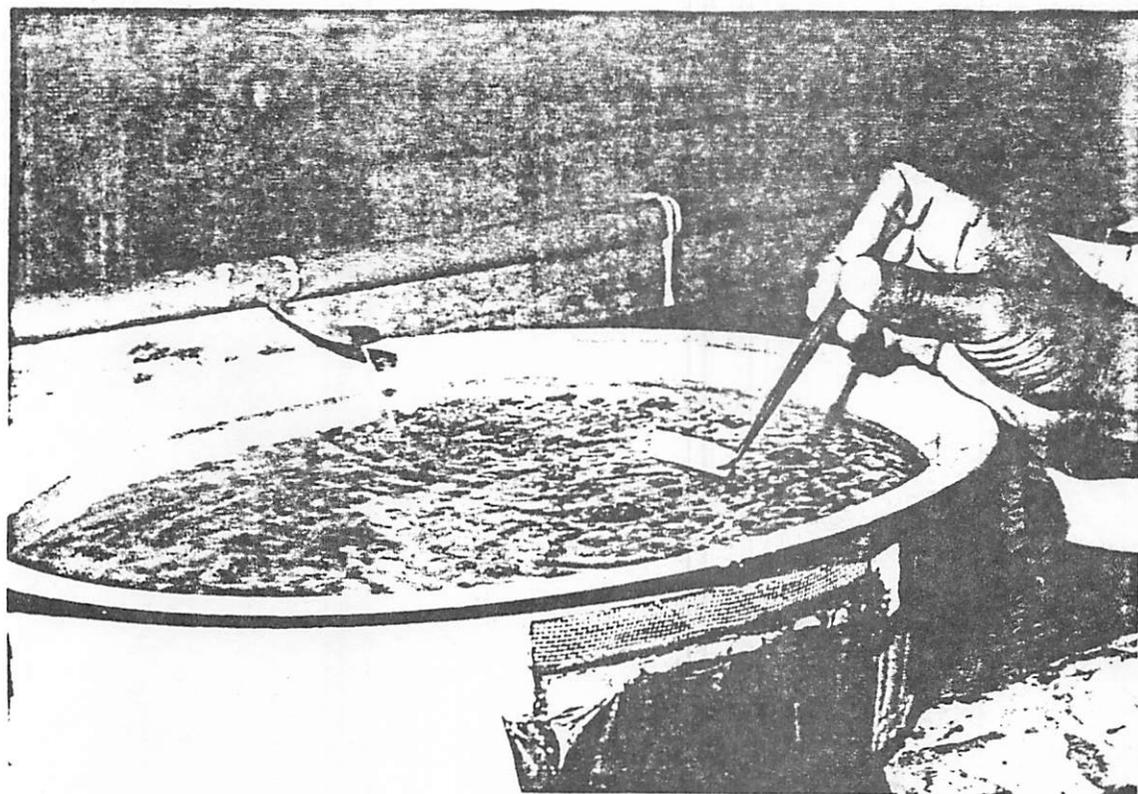


FIGURA 4. Detalhes de uma parcela experimental destacando: comeduro e entrada d'água.

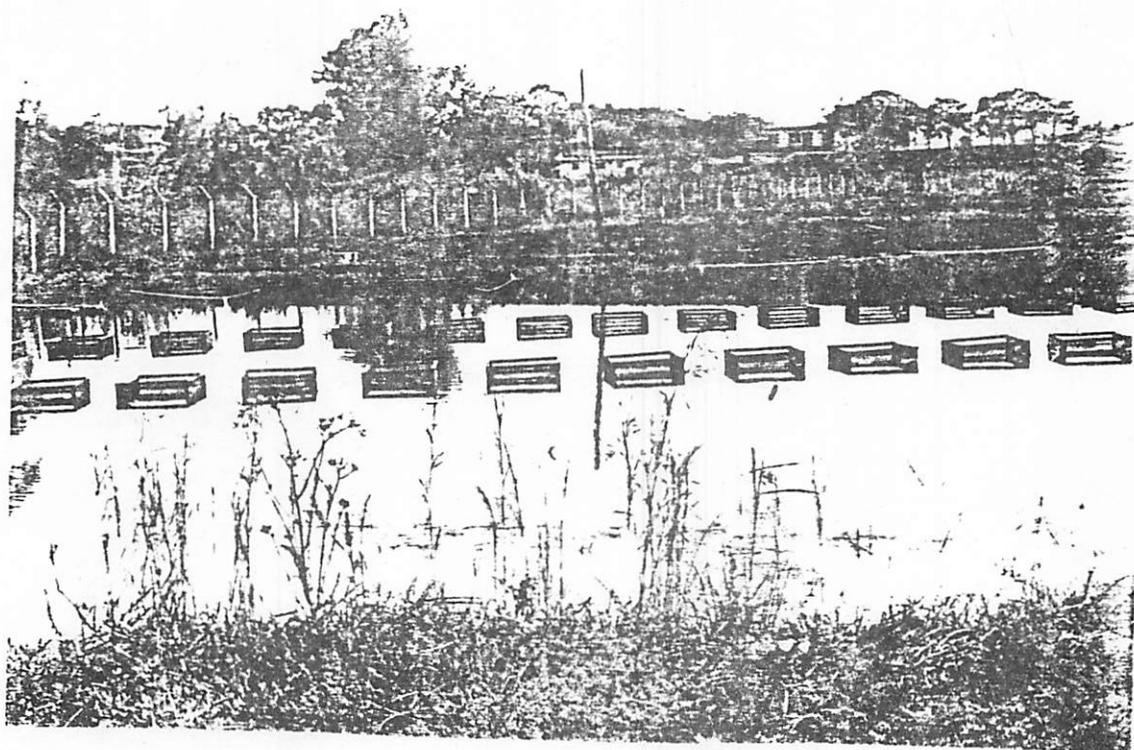


FIGURA 5 Instalação das gaiolas em tanque de terra - ESAL.

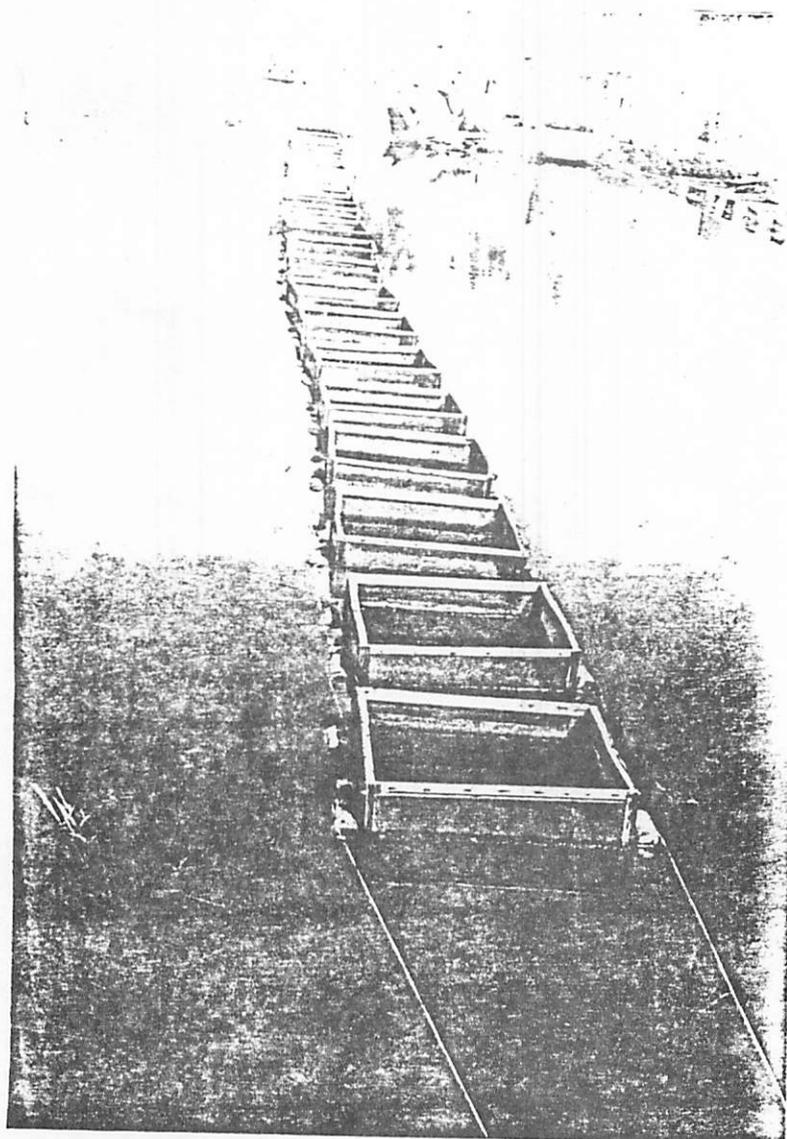


FIGURA 6. Vista parcial das gaiolas em tanque de terra. Destaque: Flutuadores.

3.4. Amostragens

No início dos trabalhos retirou-se uma amostra aleatória de 10 pós-larvas de cada grupo para determinação do comprimento total; (da boca até o final da madadeira caudal) usando-se paquímetro Nonostat, com escala de venier. Aos 20 dias repetiu-se a amostragem. No final da segunda fase todos os exemplos foram medidos

3.5. Tratamentos experimentais

Os tratamentos utilizados neste trabalho foram constituídos de dietas com 5 níveis (0; 20; 40; 60 e 80 mg/kg) do hormônio mesterolona

A composição bromatológica dos ingredientes e o percentual da ração experimental são apresentados nos quadros 3 e 4.

A composição dos suplementos minerais e vitamínicos segundo JAUNCEY & ROSS (1982), encontram-se nos quadros 5 e 6.

A diluição do hormônio mesterolona nas rações experimentais foi feita adicionando-se gradativamente pequenas quantidades da ração sobre o hormônio e homogenizando-se até completar a quantidade de ração calculada para cada tratamento. O hormônio é comercializado em forma de cápsulas sólidas o que permitiu a sua pulverização e mistura direta à ração sem necessidade de se proceder as diluições prévias em álcool como preconizado por SHELTON et alli (1978).

QUADRO 3 Composição Bromatológica dos ingredientes utilizados na preparação da dieta experimental (%).¹

INGREDIENTES	MS	PB	EE	MIN	KCAL/Kg ²
Milho	88,56	10,51	4,22	1,21	2899,5
Farelo de trigo	89,20	18,31	4,42	4,78	2751,3
Farelo de soja	89,33	47,48	1,69	6,73	2514,9
Farinha de carne e ossos	91,93	42,96	12,34	35,86	2835,8

1/ Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da ESAL.

2/ Calculado segundo CHO et alli (1983) e JAUNCEY & ROSS (1982).

QUADRO 4 Composição percentual da ração básica utilizada no experimento.

INGREDIENTES	Kg
Milho	32,00
Farelo de trigo	15,00
Farelo de soja	42,25
Farinha de carne e ossos	10,00
Sal comum	0,21
Premix Vitaminico ¹	0,35
Premix Mireral ²	0,15
Metionina	0,04
Total	100,00
Proteína Bruta (%)	30,46
Energia digestivel ³ (kcal/kg)	2686,66

1/ e 2/ Segundo JAUNCEY & ROSS (1982)

3/ Segundo CHO et alii (1983) e JAUNCEY & ROSS (1982).

QUADRO 5 Composição do suplemento mineral empregado no experimento segundo JAUNCEY & ROSS (1982). Cada 1000 gramas contém:

ELEMENTOS	QUANTIDADE/1000 g
Sulfato de magnésio	333,50 g
Sulfato ferroso	476,44 g
Sulfato de zinco	90,98 g
Sulfato de Manganês	34,68 g
Sulfato de cobre	8,00 g
Sulfato de cobalto	12,74 g
Cloreto de cromo	3,40 g
Veículo	40,26 g

QUADRO 6. Composição do suplemento vitamínico utilizado nas rações do experimento segundo JAUNCEY & ROSS (1982). Cada 1000g contém:

INGREDIENTES	QUANTIDADE/1000 g
Vitamina A	571,428 UI
Vitamina D ₃	2.857.142,85 UI
Vitamina E	28,571 g
Vitamina K	11,428 g
Vitamina C	57,150 g
Tiamina (B1)	17,142 g
Riboflavina (B2)	17,142 g
Acido pantotênico	11,428 g
Niacina	42,857 g
Piridoxina (B6)	5,714 g
Biotina	2,857 g
Acido fólico	2,857 g
Acido paraminobenzóico	14,285 g
Colina	571,428 g
Cianocobalamina (B12)	0,014 g
Inositol	114,285 g
Antioxidante B.H.T	10,000 g
Veículo	82,842 g

3.6. Análise da água

Amostras diárias da água foram tomadas para avaliações do pH, oxigênio dissolvido e temperatura, durante os vinte dias da primeira fase experimental. No início dos trabalhos realizou-se as análises de D.Q.O., D.B.Os, pH, sólidos totais, sólidos suspensos, sólidos sedimentáveis e oxigênio dissolvido conforme SILVA (1977) e A.P.H.A. (1971), para avaliar a qualidade da água de abastecimento, quadro 7, para efeito comparativo, são também mostrados no quadro 7 os índices do BRASIL/CANAMA (1986).

QUADRO 7. Parâmetros de qualidade da água.

PARAMETRO	VALORES	PADRAO ¹
D.Q.O	29,4 mg/l O ₂	-
D B.Os	1,1 mg/l O ₂	a 20° até 3mg/l de O ₂
pH	7,1	6,0-9,0
Sólidos totais	0,0059 mg/l O ₂	-
Sólidos suspensos	5,6 x 10 ⁵ mg/l O ₂	-
Sólidos sedimentáveis	0	-
Oxigênio dissolvido	8,2 mg/l O ₂	6,0 mg/l O ₂

1/ BRASIL/CONAMA (1986)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características da água e do ar durante a primeira fase experimental

A figura 7 mostra a variação da temperatura média da água de amostras coletadas às 8:00 e 16:00 horas. As variações foram relativamente pequenas entre os dois períodos de leitura apresentando um valor médio de $23,3^{\circ}\text{C}$, temperatura esta dentro do intervalo de $21-30^{\circ}\text{C}$ indicado por SHELTON et alii (1978. e 1981) para ocorrência da inversão.

As oscilações da temperatura do ar (figura 8), foram também pequenas e semelhantes a da água. Este fato poderia ser explicado devido ao pequeno volume das bacias de inversão que as tornou dependentes das mudanças atmosféricas. A média para temperatura do ar foi de $22,8^{\circ}\text{C}$, estando também de acordo com SHELTON et alii (1978 e 1981).

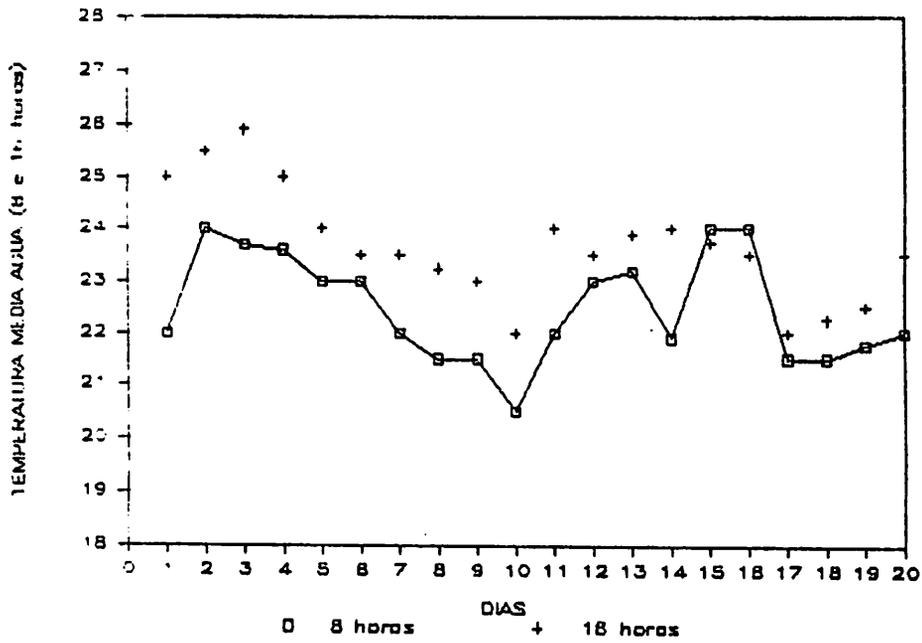


FIGURA 7. Comparações entre as médias das oscilações diárias da temperatura da água nos períodos da manhã e tarde durante a primeira fase experimental.

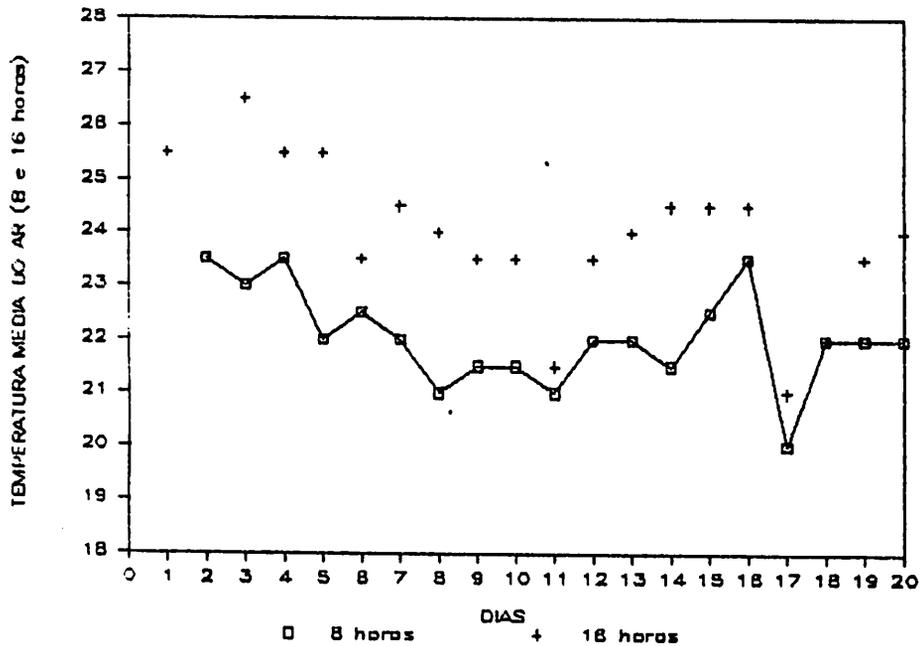


FIGURA 8. Comparações entre as oscilações diárias da temperatura do ar nos períodos da manhã e tarde durante a primeira fase experimental.

Os teores médios de oxigênio (ppm), diários são destacados na figura 9. Todos os teores foram altos ressaltando-se apenas o fato da diminuição nos quatro primeiros dias, sem contudo, serem inferiores aos níveis encontrados em águas naturais e ainda superiores aos preconizados por ROSS & ROSS (1983), para tilápias maiores.

Verificou-se pela figura 10 que não houve oscilações pronunciadas do pH durante o período experimental, permanecendo ao redor de sete. Este valor é comumente encontrado nas águas naturais e satisfatório para o bom desenvolvimento dos peixes, (ROBERTS, 1981)

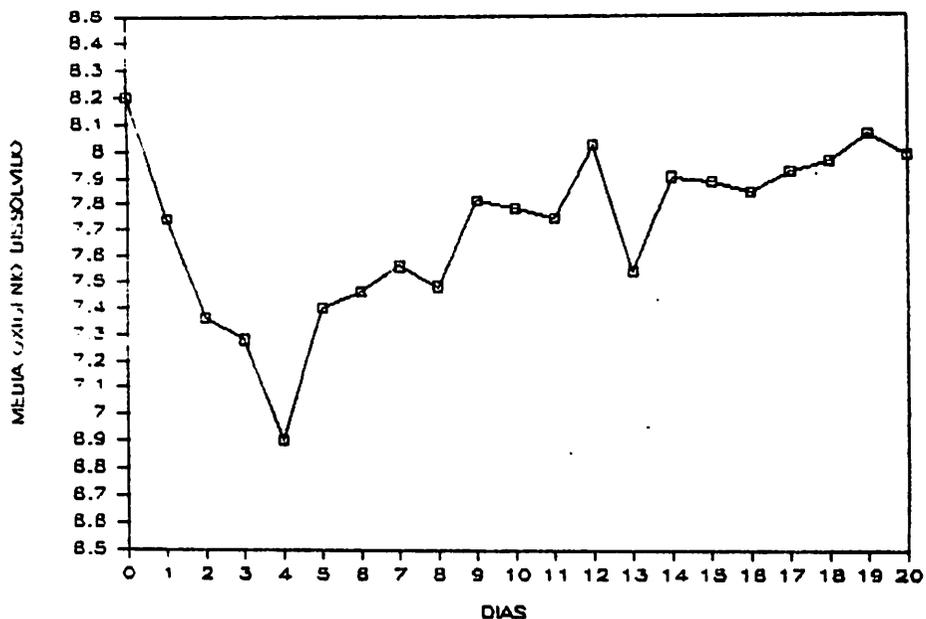


FIGURA 9 Concentrações médias diárias do oxigênio dissolvido durante a primeira fase experimental.

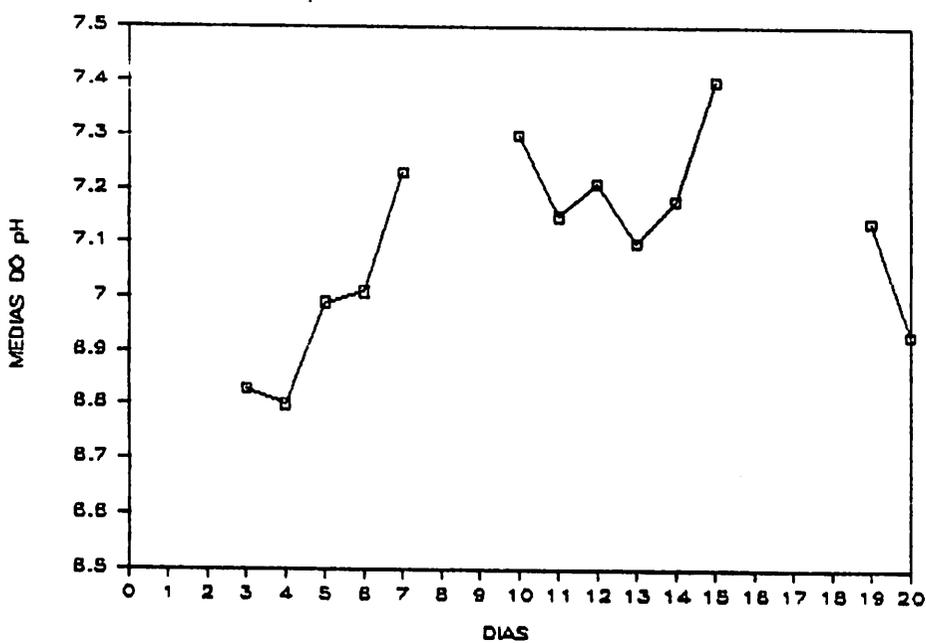


FIGURA 10. Variação média do pH durante a primeira fase experimental.

4.2. Identificação dos sexos e proporção sexual

A identificação do sexo dos peixes no final da segunda fase foi tentada inicialmente pelo exame macroscópico da papila urogenital de acordo com PEZZATO (1984); HOPKINS et alii (1979) e ANDERSON & SMITHERMAN (1978). Surgiram dificuldades nesta tentativa: vários peixes apresentavam a papila atípica em relação ao padrão considerado normal para macho ou fêmea. Da mesma forma OBI (1983), argumentou que a aparência da papila urogenital nem sempre é uma indicação acurada da condição gonadal, razão pela qual preferiu-se neste experimento abater os animais. As avaliações foram conduzidas no Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal de Minas Gerais em Belo Horizonte - MG, adotando-se o exame de campo microscópico sobre as gônadas cujos tecidos foram fixados em solução de formol a 5%.

As gônadas pouco desenvolvidas em todos os exemplares, dificultaram suas manipulações de retirada da cavidade abdominal. No entanto, o método de sexagem com o auxílio do microscópio mostrou-se mais eficiente e foram os seus resultados considerados para avaliações. Ainda que muitos autores descrevessem a presença de peixes com papila urogenital atípica ou peixes intersexuais tidos como estéreis no final de seus experimentos (PEZZATO (1984); HOPKINS et alii (1979) e JENSEN & SHELTON (1979)); no presente trabalho estes peixes foram considerados duvidosos e não participaram das avaliações finais do experimento.

As comparações entre os resultados da sexagem macroscópica e microscópica podem ser observadas nos quadros 8 e 9.

Sendo para uso direto na engorda a inversão não necessariamente tem de ser efetiva, mas apenas o suficiente para permitir a engorda dos animais sem ocorrência de desovas indesejáveis nos tanques. Neste sentido, acredita-se que os peixes tidos como duvidosos e algumas fêmeas poderiam ser destinados à engorda sem resultar em reprodução descontrolada.

Preferiu-se adotar a expressão "peixes não fêmeas" ao invés de machos, pelo fato de não ter sido possível, devido ao pouco desenvolvimento das gônadas afirmar se os peixes apresentavam gônadas indiferenciadas ou não.

QUADRO 8. Resultados (%) da sexagem com exame de campo em microscópio ótico das gônadas dos peixes ao final da segunda fase.

NIVEIS MES- TEROLONA (mg/Kg)	SEXO	TAMANHO INICIAL DAS POS-LARVAS	
		9,81 mm ³ (%)	12,76 mm (%)
0	Não Fêmea (NF)	66,61	73,44
	Duvidoso (D)	00,00	3,81
20	NF	73,18	75,13
	D	6,12	2,80
40	NF	72,29	73,99
	D	2,97	4,39
60	NF	86,26	72,72
	D	4,49	2,82
80	NF	87,84	74,06
	D	3,41	3,85

Médias	NF	77,23	73,87
	D	3,40	3,53

- 1/ - Proporção 5:3 (Macho:Fêmea)
 2/ - Proporção 3:1 (Macho:Fêmea)
 3/ - Efeito Linear (P < 0,01) para NF

QUADRO 9. Resultados (%) da sexagem visual da papila urogenital dos peixes ao final da segunda fase.

NIVEIS MESTEROLONA (mg/Kg)	SEXO	TAMANHO INICIAL DAS POS-LARVAS	
		9,81 mm	12,76 mm
0	Não Fêmea (NF)	65,00	45,00
	Duvidoso (D)	25,00	35,00
20	NF	35,00	45,00
	D	50,00	40,00
40	NF	45,00	40,00
	D	35,00	55,00
60	NF	30,00	20,00
	D	45,00	45,00
80	NF	85,00	40,00
	D	5,00	45,00
Médias	NF	52,00	38,00
	D	32,00	44,00

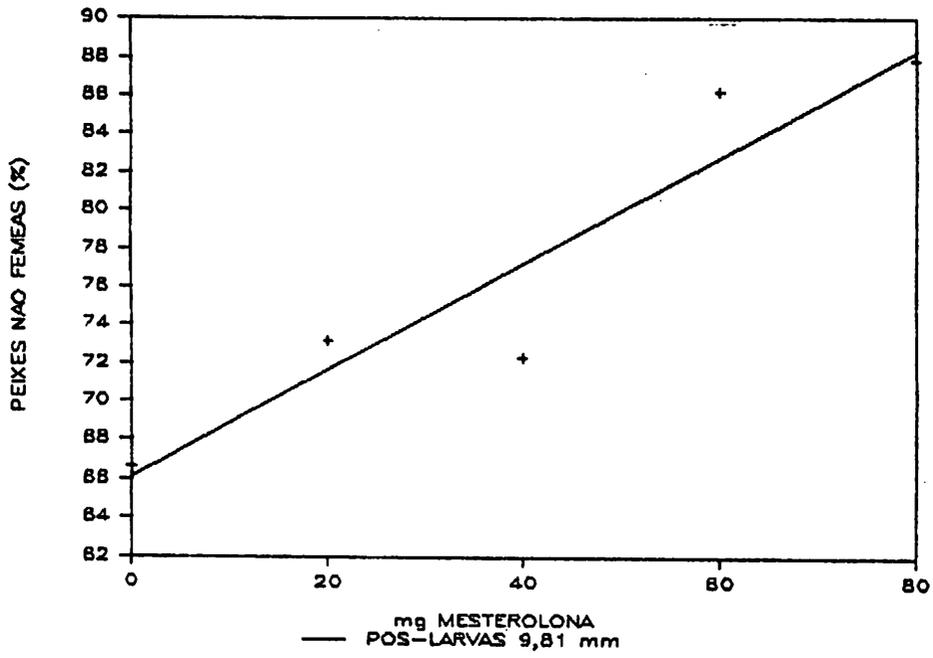
A relação dos peixes não fêmea: fêmea das pós-larvas com 12,76 mm em todos os tratamentos, manteve-se próxima de 3:1 ($P > 0,05$). Nas pós-larvas com 9,81 mm a proporção dos peixes não fêmea cresceu em relação direta ao aumento dos níveis de hormônio mesterolona (figura 11), sendo de alta significância estatística ($P < 0,01$). Em todos os tratamentos aplicados nas pós-larvas com 9,81 mm apareceram fêmeas mas não em todas as parcelas.

Não se atingiu o nível máximo efetivo para a transformação de todos os peixes. O tempo de duração dos tratamentos pode ter influenciado no desempenho dos animais. Os resultados obtidos poderiam ser mais relevantes se pudessem ter sido comprovados nos peixes considerados fêmea e duvidosos aqueles com inversão incompleta conforme ocorreu nos experimentos de MACINTOSH et alii (1985)

Para as pós-larvas com tamanho inicial de 12,76 mm a proporção dos sexos não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$), para os peixes dos diversos tratamentos. Essa não significância na proporção dos sexos era esperada, pois, presumia-se de acordo com as conclusões de DUTA (1981) que o aparelho sexual das tilápias já estivessem em fase de diferenciação no início do experimento. Mais tarde MACINTOSH (1985), não encontrou efeito do hormônio metiltestosterona em tratamento de curta duração (30 dias), mas efeito masculinizante em tratamentos com 60 dias de duração sobre larvas com tamanho entre 11 e 14 mm, o que reforça os resultados encontrados neste trabalho.

As proporções sexuais para os tratamentos sem mesterolona para as pós-larvas com 9,81 mm e 12,76 mm diferem de todos os trabalhos citados que apresentam nas próximas de 1:1, o que deixa dúvidas sobre a pureza genética dos peixes empregados neste trabalho. Algumas considerações foram apresentadas por AVTALION & HAMMERMAN (1978), que surgeriram oitenta combinações sobre as proporções sexuais de diferentes híbridos obtidos de cruzamentos

entre tilápias de várias espécies, sendo que em dez delas é possível ocorrer na progênie a relação 3:1 e duas 5:3, conforme obtidos neste experimento.



Pós-larvas 9,81 mm

$$Y = 66,128 + 0,2777X_i$$

FIGURA 11. Proporção sexual em função dos níveis de mesterolona na dieta.

4.3. Sobrevivência

Durante a realização do experimento principalmente no intervalo de 11 a 20 dias acentuou-se a mortalidade, e, neste período os animais de todos os tratamentos tinham dificuldades de alimentarem-se ficando agitados, corpos escurecidos, exoftálmicos com incoordenação nervosa acentuada, movimentos giratórios destrógiros e levógiros seguidos de apatia e/ou morte. O agravamento dos sintomas contribuiu para um menor consumo da dieta e conseqüentemente uma menor ingestão de hormônio, permitindo aos níveis mais altos um melhor resultado, (quadro 10).

Foi verificada grande variação entre as parcelas (C.V. 34%) sem relação com os tratamentos aplicados. Após a transferência das pós-larvas para as gaiolas houve redução da mortalidade o que ressalta a possibilidade de terem ocorrido falhas no controle dos fatores do ambiente. A sobrevivência média geral para o experimento foi de 53,05% .

QUADRO 10. Sobrevivência média dos peixes e média do crescimento (mm) no final da primeira e segunda fase.

NÍVEIS DE MESTERO LONA (mg/Kg)	TAMANHO INICIAL DE 9,81 mm				TAMANHO INICIAL 12,76 mm			
	SOBREVIVÊNCIA (%)	CRESCIMENTO (mm)		TOTAL	SOBREVIVÊNCIA (%)	CRESCIMENTO (mm)		TOTAL
		1ª FASE	2ª FASE			1ª FASE	2ª FASE	
0	56,60	6,81	70,30	77,12	52,50	8,49	67,18	75,67
20	49,00	8,06	69,40	77,47	53,50	8,34	67,70	76,04
40	50,50	7,49	69,30	76,79	57,00	7,54	63,70	71,24
60	44,50	5,99	66,20	72,19	71,00	8,56	57,23	65,79
80	44,00	6,24	74,70	80,94	52,00	6,72	67,50	74,22
Médias	48,90	6,92	69,98	76,90	57,20	7,93	64,66	72,59

4.4. Crescimento

Quanto ao crescimento nas duas fases observou-se que os níveis da mesterolona não tiveram nenhum efeito. A diferença no tamanho das pós-larvas (9,81 e 12,76 mm) foram significativas estatisticamente ($P < 0,05$) até o final da primeira fase. Porém, houve recuperação de crescimento, não sendo significativas as diferenças encontradas entre os animais no final da segunda fase.

As pós-larvas dos tratamentos que apresentaram menores índices de sobrevivência até o final da segunda fase tiveram

melhor crescimento principalmente para os animais com tamanho médio inicial de 12,76 mm, (quadro 10).

Este fato pode ser explicado devido os animais de cada parcela serem mantidos separados, e que após a colocação dos peixes nas gaiolas houve uma melhor distribuição de espaço e maior quantidade de alimento natural disponível para cada peixe, permitindo um melhor desempenho daqueles em menor densidade. Portanto, não foi possível avaliar o efeito anabolizante do andrógeno sobre o crescimento dos peixes conforme atestam os trabalhos de HANSON et alii (1983) e MACINTOSH et alii (1985).

5. CONCLUSOES

Nas condições deste experimento e de acordo com os resultados obtidos pode-se chegar às seguintes conclusões:

- 1 - O hormônio mesterolona mostrou-se efetivo para promover a inversão sexual somente para as pós-larvas com tamanho inicial de 9,81 mm resultando 66,61%; 73,18%; 72,29%; 86,26% e 87,84% de peixe não fêmea para os tratamentos com 0; 20; 40; 60 e 80 mg mesterolona por quilo de dieta, respectivamente após 20 dias de tratamento.
- 2 - O aumento dos níveis de mesterolona possibilitou aumento linear da proporção de peixes não fêmea.
- 3 - Não houve efeito da mesterolona sobre o crescimento e sobrevivência dos peixes.
- 4 - As altas taxas de mortalidade em todas as parcelas não foram afetadas pelos tratamentos.

6. RESUMO

No Laboratório da Estação de Piscicultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras - MG, realizou-se um experimento no período de janeiro a maio de 1.988. Estudou-se os efeitos da mesterolona (17β -hidroxi-1 α -metil-5 α -androstan-3-ona) sobre a proporção sexual, crescimento e sobrevivência de 2000 pós-larvas de *Oreochromis niloticus* após 20 dias de tratamento.

O delineamento experimental foi semelhante ao de blocos casualizados e consistiu em 5 níveis de mesterolona (0, 20, 40, 60 e 80 mg/Kg de dieta), dois tamanhos iniciais das pós larvas (9,81 mm e 12,76 mm) e quatro repetições.

Após o término da primeira fase experimental as pós-larvas foram transferidas para gaiolas de 1,0 m³ instaladas em um tanque externo de 1200 m² e 1,5 m de profundidade para crescimento e sexagem posterior.

A sobrevivência média para o experimento foi de 53,05% não sendo constatadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

As diferenças do tamanho entre as pós-larvas com 9,81 mm e 12,76 mm mantiveram-se até o término da primeira fase experimental sendo significativas estatisticamente, ($P < 0,05$). Na segunda fase

experimental os peixes com menor tamanho inicial (9,81 mm) tiveram maior média de crescimento total (76,90 mm) contra o outro grupo (72,59 mm) porém sem significância ($P > 0,05$). Estes resultados permitiram concluir que:

- o aumento dos níveis de mesterolona possibilitou aumentar linearmente a proporção de peixes não fêmeas em pós-larvas com tamanho médio inicial de 9,81 mm sem afetar o crescimento e a sobrevivência.

7. SUMMARY

At the Laboratory of the Department of Aquaculture, Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL - Lavras, Minas Gerais, an experiment was realized between January and May, 1988, in order to investigate the effect of sexual determination in *Oreochromis niloticus* after being fed a diet enriched with mesterolona (17 β -hidroxi-1 α -metyl-5 α -androstan-3-ona) in diverse proportions. The investigation also aimed the determination of the minimum size of the fishes that are susceptible to sexual inversion, as well as its development during the first stages of growth after the treatment.

The 2000 tilápia nilótica fry, used for this experiment, were separated and locate at random in 40 plastic basins, each containing 50 fry, they were fed, for 20 days. In order to determine the parameters sex-proportion x development (growth and survival), a statistic analysis of the random groups was made considering the two initial size (9,81 mm and 12,76 mm), five quantity of mesterolone added to 1 kg of feed (0, 20, 40, 60 and 80 mg), and fourfold repetition.

After finishing the experiment the fishes were transferred to 1,0 m³ cages, located in a 1200 m² out-door earth pond, with an

average depth of 1,5 m. The same distribution was maintained.

The average survival rate has 53,05% for all modes of treatment and differences between them ($P>0,05$) were not significant

The average frequency results for non-female fishes in the group with (9,81 mm) were: 66,61%, 73,18%, 72,29%, 86,26% and 87,84% for 0; 20; 40; 60 and 80 mg de mesterolona respectively; the differences were highly significant ($P<0,01$). For the group with 12,76 mm the differences were 73,44%; 75,13%; 73,98%; 72,72% and 74,08% respectively. The differences were not significant ($P>0,05$).

The differences of size at the start of the experiment was maintained in each group until the end of the experimental period; they were statistically significant ($P<0,05$), but in the post-experimental stage the smaller fishes recuperated their growth, so that no significant differences ($P>0,05$).

The proportion of non-female fish in the group with 9,81 mm is dependent of the increasing of mesterolona proportions.

The developmente (growth and survival) were not dependent of mesterolona.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standart methods for the examination of water and wasterwater. 14.ed. Washington, 1971. 874 p.
- ANDERSON, C.E. & SMITHERMAN, R.O. Production of normal male androgen sex-reversed and fed commercial catifish diet in ponds. In: SMITHERMAN, R.O.; SHELTON, W.L. & GROVER, J.H. eds. Symposium on the culture of exotic fishes. Alabama, American Fisheries Society, 1978. p.34-42.
- ANDRIOL. Scientific information. Organon Research and Development. S.l., s.d.. 68p.
- AVTALION, R.R. & HAMMERMAN, I.S. Sex determination in *Sarotherodon* (*Tilapia*). I. Introdutin to theory of autosomal influence. Bamidgeh, Israel, 30(4):110-5, 1978.
- BACILA, M. Bioquímica veterinária. São Paulo, J.M. Varela Livros, 1980. 534p.
- BETANCOURT, S.H. Revision sobre el uso de esteroides en la inversion sexual de tilapias. Revista Latinoamericana de Acuicultura, México, 38:73-120, 1988.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente Conselho Nacional do Meio Ambiente - Secretaria Especial do Meio Ambiente. Resoluções CONAMA 1984/1986. Resolução nº 20 de 18/06/86 - Classificação das águas doce, salobras e salinas. 2. ed. Brasília, 1986. V.1, p. 72-89.
- BUDLE, C.R. Androgen-induced sex inversion of *Oreochromis* (Trewavas) hybrid fry stocked into cages stading in earther pond. Aquaculture, Amsterdam, 40:233-9, 1984.
- CHO, C.Y.; COWEY, C.B. & WATANABE, T. Methodological Approaches to Research and Development. In: FINFISH NUTRITION IN ASIA. Singapuure, 1983. 152p.

- DUTA, O.K. Factors affecting gonadal sex differentiation in *Tilapia aurea* (Steindachner). Dissertation Abstracts International, Auburn, 40 (10): 4691, 1980. In: ANIMAL BREEDING ABSTRACTS, Farnham Royal, 49 (1): 42, abst. 311, Jan. 1981.
- EUCLYDES, R.F. Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas). Viçosa, UFV, 1983.59 p
- HANSON, T.R.; SMITHERMAN, R.O.; SHELTON, W.L. & DUNHAM, R.A. Growth comparisons of monosex *Tilapia* produced by separation of sexes, hybridization and sex reversal. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel, 1983. p.570-79
- HEPHER, B. & PRUGININ, Y. Cultivo de peces comerciales - Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel. México, Ed. Limusa, 1985. 316p.
- HOPKINS, K.D.; SHELTON, W.L. & ENGLE, C.R. Estrogen sex-reversal of *Tilapia aurea*. Aquaculture, Amsterdam, 18:263-8, 1979.
- HURK, K.V. & SLOF, G.A. A morphological and experimental study of gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Cell and Tissue Research, Utrecht, 218(4):487-97, 1981. In: ANIMAL BREEDING ABSTRACTS, Farnham Royal, 49(1):42, Abst. 312, Jan. 1981.
- JAUNCEY, K & ROSS, B. A guide to tilapia feeds and feeding. Scotland, Institute of Aquaculture University of Stirling, 1982. 111p.
- JENSEN, G.L.; SHELTON, W.L. Effects of estrogens on *Tilapia aurea*: Implications for production of monosex genetic male *Tilapia*. Aquaculture, Amsterdam, 16:233-42, 1979.
- _____ & WILKEN, L.O. Use of methyltestosterone silastic implants to control sex in grass carp. In: SMITHERMAN, R.O; SHELTON, W.L. & GROVER, J.H. eds. Symposium on the culture of exotic fishers. Alabama, American Fisheries Society, 1978. p.200-19.

- MACINTOSH, D.J.; VARGHEESE, T.J. & SATYANARAYANA, G.P. Hormonal sex reversal of wild-spawned *Tilapia* in India. Journal of Fish Biology, London, 26: 87-94, 1985.
- MERIWETHER, F.H. & SHELTON, W.L. Observation on aquarium spawning of estrogen-treated and untreated *Tilapia*. In: PROC. ANN. CONF. S. E. ASSOC. FISH & WILDL., AGENCIES, 34:81-7, 1985.
- MIRES, D. A technical evaluation of *Tilapia* cultures. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel 1983. p.600-10.
- NAGY, A.; BERCSÉNYI, M. & CSANYI, V. Sex reversal in carp *Cyprinus carpio* by oral administration of metylestosterone. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Eotvos, 38 (6): 725-8, 1981.
- OBI, A. & SHELTON, W.L. Androgen and estrogen sex-reversal in *Tilapia* hornorum. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel, 1983. p.165-73.
- PEZZATO, L.E. Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilapia do nilo *Oreochromis niloticus* submetida à reversão sexual. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, 1984. 90p. (Tese MS).
- REIMBOTH, R. The problem of sexual bipotentiality as exemplified, by teleosts. Reproduction, Nutrition, Development, German Fed. Rep. 22 (2) 397-403, 1982. In: ANIMAL BREEDING ABSTRACTS, Farnham Royal, 50 (11): 815, abstr. 6868, Nov. 1982.
- ROBERTS, R.J. Patologia de los peces. Madri, Ed. Mundi-Prensa, 1981. 366p.
- ROSS, B. & ROSS, L.G. The oxygen requirements of *Oreochromis niloticus* under adverse conditions. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel, 1983. p.134-43.
- ROTHBARD, S.; SOLNIK, E.; SHABBATH, S.; AMADO, R. & GRABIE, I. The technology of mass production of hormonally sex-inversed all-male *Tilapias*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel, 1983. p.425-34.
- SHELTON, W.L.; GUERRERO, D.R. & MACIAS, J.L. Factors affecting androgen sex reversal of *Tilapia aurea*. Aquaculture, Amsterdam, 25:59-65, 1981.

- SHELTON, W.L.; HOPKINS, K.D. & JENSEN, G.L. Use of hormones to produce monosex *Tilapia* for aquaculture. In: SMITHERMAN, R.O.; SHELTON, W.L. & GROVER, S.H. eds. Symposium on the culture of exotic fishes. Alabama, American Fisheries Society, 1978. p.200-19.
- SILVA, M.O.S.A. Análises físico-químicas para controle de estações de tratamentos de esgotos, São Paulo, CETESB, 1977. 266p.
- WALLACE, E.C. & SHELTON, W.L. Sex ratios of progeny from mass spawnings of sex-reversed broodstock of *Tilapia nilotica* Aquaculture, Amsterdam, 33: 365-71, 1983.
- YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W.S. & RORDAHL, D.J. eds. Fish physiology. New York, 1969. v.3., p.117-57.
- . A YY male goldfish from mating estrone induced XY female and normal males. The Journal of Heredity, Baltimore, 66:2-4, 1975.
- YAMAZAKI, F. Sex control and manipulation in fish. Aquaculture, Amsterdam, 33:329-54, 1983.
- YARON, S.; ILAN, Z.; BOGOMOLNAYA, A.; BLAUER, Z. & VERMAAK, J.F. Steroids hormones in two tilapia species: *Oreochromis aureus*, *O. niloticus*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA IN AQUACULTURE, Israel, 1983. p.153-64.

APENDICE

QUADRO 11. Análise de variância dos resultados experimentais:
(Quadrados Médios).

FONTES DE VARIACÃO	GRAUS LIBERDADE	PROPORÇÃO PEIXES \bar{N} /FEMEA	SOBREVIVENCIA	CRESCIMENTO ATÉ 20 DIAS	CRESCIMENTO 20-102 DIAS	CRESCIMENTO TOTAL 0 ATÉ 102 DIAS
Blocos	1	0,0113	0,0689	10,201†	283,0242	185,7612
Tratamento						
(dent/bloco 1)	4	0,0347	0,01037	2,9742	37,46797	38,8832
Linear	1	0,1233††	0,03481	4,16025	12,54395	2,2562
Tratamento						
(dent/bloco 2)	4	0,00312	0,02533	2,51325	79,83221	72,06120
Resíduo	30	0,01463	0,03278	2,51566	125,2638	120,4868

Total	39	-	-	-	-	-
CV (%)	-	16,01	34,13	21,36	16,62	14,68

† (P<0,05)

†† (P<0,01)