

APLICAÇÃO DE MÉTODOS DIRETOS E INDIRETOS PARA A PRODUÇÃO DE POPULAÇÕES MONOSSEXUAIS NA TILAPICULTURA

Robie Allan Bombardelli
Carmino Hayashi
Fábio Meurer

BOMBARDELLI¹, R.A.; HAYASHI², C.; MEURER³, F. Aplicação de métodos diretos e indiretos para a produção de populações monossexuais na tilapicultura. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 57-68, 2004.

RESUMO: No cultivo de tilápias, as espécies ao gênero *Oreochromis* apresentam maior importância devido a sua fácil adaptabilidade às condições de cultivo, rusticidade, altas taxas de crescimento e também à grande aceitação de sua carne pelo mercado consumidor. Apesar de suas vantagens, um grande problema existente com relação ao cultivo destes peixes está relacionado com sua maturidade sexual precoce e elevada prolificidade, o que pode levar à ocorrência de superpopulação em condições de cultivo. Este fato pode provocar grandes prejuízos aos cultivos devido à redução das taxas de crescimento dos animais envolvidos na reprodução, competição dos filhotes com os adultos pelo alimento e, em casos extremos, mortalidade devido à queda de qualidade da água. Tendo em vista esta problemática, diversas técnicas de produção de populações monossexo têm sido estudadas. Dentre estas técnicas pode-se considerar aquelas que fazem o controle endógeno direto e indireto do sexo fenotípico. As técnicas de controle direto são aquelas que envolvem a masculinização, feminilização ou esterilização a partir da utilização de hormônios, antiestrógenos, inibidores enzimáticos e compostos esterilizantes. Os tratamentos indiretos utilizam manipulação ambiental, genética ou endócrina para a produção de indivíduos com gametas monossexuais. Atualmente a técnica mais difundida é o método direto, onde se utilizam tratamentos com o hormônio 17 α metiltestosterona incorporado à ração. Contudo, já existe uma tendência de utilização das técnicas indiretas e diretas que não utilizam hormônios esteróides, devido à preocupação do mercado consumidor com a utilização dos hormônios esteróides nestes cultivos.

PALAVRAS-CHAVE: métodos diretos e indiretos, reversão sexual, tilápias

DIRECT AND INDIRECT METHODS APPLIED TO THE PRODUCTION OF MONOSEXUAL POPULATIONS IN TILAPIA BREEDING PROGRAMS

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Direct and indirect methods applied to the production of monosexual populations in tilapia breeding programs. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 57-68, 2004.

ABSTRACT: Species of the tilapia genus *Oreochromis* are characterized by high adaptability to closed breeding conditions, rusticity, high growth rates and wide acceptability of fillet by consumers. In spite of these advantages, breeding of tilapias has to meet the problem of early sexual maturity and high proliferation, which may result in overpopulation. These factors may cause high financial losses due to a decrease in the growth rates of reproducing animals, competition for food between young and adult fish and, in extreme cases, deaths caused by degraded water quality. Many techniques involving the production of one-sex populations have been ventured. Techniques that favor direct and indirect endogenous control of phenotypic sex have been enhanced. Direct control techniques involve emasculation, feminization, or sterilization with hormones, anti-estrogens, enzyme inhibitors and sterilizing substances. Indirect treatments use environmental, genetic or endocrine manipulation for the production of specimens with monosexual gametes. The direct method with treatments including hormone 17 α methyltestosterone in the diet is currently more in use. However, there is a trend to use the indirect and direct techniques without steroid hormones due to consumers' concern with the use of steroid hormones in such cultures.

KEY WORDS: direct and indirect methods, sex reversion, tilapia

MÉTODOS DIRECTOS E INDIRECTOS APLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE POBLACIÓN MONOSEXUAL EN EL CULTIVO DE TILAPIAS

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Métodos directos e indirectos aplicados en la producción de población monossexual en el cultivo de tilapias. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 57-68, 2004.

RESUMEN: En el cultivo de tilapias, las especies del género *Oreochromis* presentan mayor importancia debido a su fácil adaptabilidad a las condiciones de cultivo, rusticidad, altas tasas de crecimiento y también a la gran aceptabilidad de su carne por el mercado consumidor. A pesar de sus ventajas, hay un gran problema respecto al cultivo de esta especie, ésta tiene su madurez sexual precoz y elevada proliferación, que puede resultar en una superpoblación en las condiciones de cultivo. El

¹ Engenheiro de Pesca – Mestrando pelo Programa de Pós Graduação em Zootecnia – PPZ/UEM. rabombardelli@bol.com.br

² Professor Titular do Departamento de Biologia – DBI/UEM. chayashi@uem.br

³ Zootecnista, MSc., Professor do Curso de Medicina Veterinária da PUCPR – Campus de Toledo, Doutorando – PPZ/UEM. Av. da União, 500. Jardim Coopagro. 85902-532. Toledo-PR. f-meurer@bol.com.br7

hecho puede provocar grandes perjuicios a los cultivos debido a la disminución de los índices de crecimiento de los peces en fase de reproducción, competición para el alimento entre los jóvenes y los adultos y, en casos extremos, la mortandad debido a causa de la calidad del agua. Considerando esta problemática, diversas técnicas de producción de poblaciones monosexo han sido estudiadas. De las técnicas estudiadas se puede considerar aquellas que hacen el control endógeno directo e indirecto del sexo fenotípico. Las técnicas de control directo son aquellas que involucran el género o la esterilización con la utilización de hormonas antiestrógenos, inhibidores enzimáticos y compuestos esterilizantes. Los tratamientos indirectos utilizan manipulación ambiental, genética o endocrina para la producción de espécimen con gametes monosexuales. Actualmente la técnica más difundida es la que utiliza el método directo, en que se propone el tratamiento con la hormona 17 α methyltestosterone incorporado a la dieta ministrada. Sin embargo, hay una tendencia en utilizar las técnica indirectas y directas que no utilizan hormonas esteroides, debido a la preocupación del mercado consumidor con el empleo de las hormonas esteroides en dichas culturas.

PALABRAS-CLAVE: métodos directos e indirectos , reversión sexual, tilapias

Introdução

Atualmente tilápia é um nome comumente utilizado para definir um grande número de espécies pertencentes à tribo *Tilapiini*, um grupo de peixes exclusivamente africano, dentro da Família *Cichlidae*. Contudo somente oito ou nove espécies destacam-se na aquicultura. Inicialmente considerada como membro de um único gênero, *Tilápia* (TURNER & ROBINSON, 2000), três gêneros são agora reconhecidos com potencial para o cultivo: *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*. Em adição às características anatômicas, seu critério para distinção genérica inclui as seguintes diferenças na sua biologia reprodutiva: *Tilapia*, apresenta desova no substrato, *Sarotherodon*, apresenta cuidado paternal ou biparental e incubação bucal e *Oreochromis*, apresenta incubação bucal materna (MACINTOSH & LITTLE, 1995).

Dentre as descritas anteriormente, as espécies do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, tem sido considerada mais importante para as condições de cultivo, devido a sua rápida taxa de crescimento, adaptabilidade às diversas condições de cultivo e alta aceitação pelo consumidor (MEURER *et al.*, 2000; MEURER, 2002).

Apesar dessas características, as tilápias são um paradoxo com relação à reprodução. Estas são espécies que apresentam desovas parcelas e baixa fecundidade, onde no gênero *Oreochromis* podem alcançar índices de fecundidade de 6.000 a 13.000 ovos/kg/desova. Esta baixa fecundidade é compensada pela característica de desovas assíncronas destes peixes, associada à grande sobrevivência das proles, devido ao cuidado parental e incubação bucal dos ovos e/ou larvas (PHELPS & POPMA, 2000).

Na aquicultura, as espécies utilizadas devem geralmente apresentar as características de atingirem seu tamanho comercial antes de alcançar a maturidade sexual (PHELPS & POPMA, 2000). Esta questão tem se mostrado como uma grande parte dos problemas associados com a engorda de tilápias, principalmente devido ao excepcional modo de reprodução destes peixes, em especial as espécies do gênero *Oreochromis*. A maioria das espécies de tilápia alcançam sua maturidade sexual muito cedo, geralmente entre o 4º ou 6º mês de vida (KUBITZA, 2000), apresentando muitas vezes peso inferior a 40 g (MACINTOSH & LITTLE, 1995). Após atingirem sua maturidade sexual, estes peixes desviam sua energia para a reprodução e cuidado parental e, em virtude de sua alta prolificidade, levam à superpopulação nos ambientes de cultivo (KUBITZA, 2000). Neste caso os filhotes irão competir com os adultos pelo alimento, causando

uma redução da taxa de crescimento e em casos extremos mortalidade devido à depreciação da qualidade de água.

Associado com os problemas reprodutivos, o fato dos machos apresentarem taxa de crescimento superior às fêmeas (KUBITZA, 2000), fez com que nos últimos anos, diversas técnicas tenham sido empregadas no sentido de minimizar os problemas devido à reprodução em ambientes de cultivo, a fim de viabilizar a tilapicultura. Algumas técnicas foram baseadas apenas na redução da atividade reprodutiva (utilização de cultivos em gaiolas); redução do crescimento dos filhotes ou recrutamento (policultivo como peixes predadores ou constante despesca dos viveiros de cultivo). Logo outras técnicas mais eficazes, baseadas na manipulação direta e indireta do sexo fenotípico dos peixes foram utilizadas, baseadas na eliminação das fêmeas dos ambientes de cultivo a partir de reversão sexual por tratamentos hormonais e manipulação genética ou ambiental.

DIFERENCIAÇÃO SEXUAL DAS GÔNADAS

A diferenciação gonadal pode tomar diversas formas nos peixes teleosteos, podendo variar de um caso familiar, onde os indivíduos desenvolvem suas gônadas direta e finalmente em testículos ou ovários até a maturação sexual; e há até casos de espécies que apresentam hermafroditismo sincrônico, possuindo tecido gonadal masculino e feminino ao mesmo tempo (YAMAZAKI, 1983; DELVIN & NAGAHAMA, 2002).

Espécies gonocorísticas

As espécies de peixes gonocorísticos, desenvolvem-se somente em machos ou fêmeas e permanecem nesta condição através de toda a sua vida. É importante notar que o estado sexual final destes animais pode não refletir a rota inicial de desenvolvimento gonadal tomada.

Nestes peixes pode-se encontrar dois tipos de gonocoristas: diferenciados e indiferenciados. Os gonocorísticos diferenciados (primários) apresentam inicialmente gônadas indiferenciadas sexualmente, as quais irão se diferenciar em tecido testicular ou ovariano. Logo os gonocorísticos indiferenciados (secundários) desenvolvem primeiramente suas gônadas em ovários, onde a partir de um certo período de vida, metade da população apresenta degeneração do tecido ovariano e formação dos testículos (YAMAZAKI, 1983; CARVALHO, 1985; DELVIN & NAGAHAMA, 2002).

O controle sexual fenotípico destes peixes (inclusive as tilápias) normalmente se dá com sucesso, quando administrados hormônios esteróides exógenos durante os estágios de desenvolvimento gonadal.

Hermafroditas e hermafroditas anormais ou intersexos

As espécies hermafroditas são aquelas que naturalmente apresentam tanto tecido ovariano como testicular em um mesmo indivíduo, ambos funcionais durante todo o período de vida (YAMAZAKI, 1983).

Estes casos de peixes interssexuais, chamados de hermafroditas anormais, os quais ocorrem devido a um processo de reversão sexual espontânea, são casos muito raros em populações de peixes selvagens. As características fenotípicas destes animais variam com relação ao grau de ocupação de tecido gonadal masculino na gônada feminina e vice-versa (DELVIN & NAGAHAMA, 2002).

Em condições artificiais, casos de intersexualidade ocorrem, devido à ineficiência dos tratamentos hormonais aplicados para a reversão sexual (CARVALHO & FORESTI, 1996).

Estabilidade da determinação sexual em espécies gonocorísticas

A diferenciação gonadal em peixes apresenta algumas exceções quando comparada com mamíferos. Este processo pode ser influenciado por flutuações de fatores intrínsecos tais como crescimento e comportamento, ou extrínsecos ambientais, como a temperatura.

Além disso, em espécies gonocorísticas, a função gonadal pode sofrer alterações, mesmo depois do término da diferenciação sexual. Estas alterações podem ser exemplificadas pelo tratamento da truta arco-íris com testosterona ou estrógeno, depois da diferenciação sexual ter se completado, podendo impedir a gametogênese, tanto em fêmeas como em machos. Da mesma forma, o tratamento dietário de fêmeas de trutas arco-íris com 17 a metiltestosterona, depois do período normal de diferenciação sexual pode induzir ao desenvolvimento testicular, sendo este efeito transitório, onde a masculinização é reduzida quando os animais são avaliados seis meses mais tarde. Efeito semelhante também pode ser obtido quando carpas possuindo ovários diferenciados são tratadas com 17 a metiltestosterona, provocando a degeneração do ovário e posterior indução da formação de testículos (DELVIN & NAGAHAMA, 2002).

Apesar de tudo, ainda não se conhece completamente a origem das células envolvidas e os mecanismos deste processo de degeneração e redeterminação sexual (DELVIN & NAGAHAMA, 2002).

PRODUÇÃO DE POPULAÇÃO MONOSSEXO POR CONTROLE ENDÓCRINO DO SEXO

Existem basicamente dois métodos de controle endócrino do sexo, que são os métodos diretos e os indiretos. Os métodos diretos irão atuar diretamente sobre os processos

fisiológicos que determinam masculinização, feminilização ou esterilização. Estes métodos utilizarão tratamentos com agentes androgênicos, estrogênicos ou esterilizantes durante os estágios de desenvolvimento dos animais onde estes ainda estarão sexualmente indiferenciados. Os tratamentos indiretos irão atuar diretamente sobre processos genéticos ou variáveis ambientais, os quais influenciarão indiretamente os processos fisiológicos que determinam o sexo fenotípico (DONALDSON, 1996).

Métodos diretos

Segundo YAMAMOTO (1969), para que estes métodos sejam efetivos, os tratamentos devem começar antes do início da diferenciação sexual. Ainda, de acordo com NAKAMURA & TAKAHASHI^a *apud* PHELPS & POPMA (2000), o estágio de gônadas indiferenciadas é o período crítico deste processo, onde as células germinativas respondem aos indutores exógenos da diferenciação sexual tão bem quanto aos endógenos. Contudo, a intervenção dos tratamentos não necessariamente deve ocorrer durante todo o período de diferenciação sexual, mas sim durante o período de maior sensibilidade de cada espécie ao tratamento.

O período de diferenciação sexual irá variar de espécie para espécie. Por exemplo, a diferenciação sexual em *O. niloticus* tem início entre o 9º e 10º dia após a eclosão e termina entre o 30º e 33º dia após a eclosão. Por outro lado, em *O. mossambicus* este período termina entre o 16º e 20º DPE (ALVENIDA-CASAUAY & CARIÑO, 1988; PHELPS & POPMA, 2000). Recentemente progressos significativos têm sido alcançados com os métodos diretos, principalmente no que se diz respeito à caracterização do período de desenvolvimento ideal para a realização dos tratamentos, determinação das doses mínimas efetivas, tipo de agente alterador de sexo a ser utilizado e tempo de tratamento (DONALDSON, 1996).

Os tratamentos aplicados em métodos diretos de controle sexual fenotípico podem utilizar uma ampla gama de agentes alteradores de sexo como: hormônios naturais ou sintéticos (YAMAMOTO, 1969; GOETZ *et al.*, 1979; BORG, 1994; DONALDSON, 1996), compostos esterilizantes (PIFERRER & DONALDSON, 1993; CARVALHO & FORESTI, 1996; PHELPS & POPMA, 2000), antiestrogênicos (PHELPS & POPMA, 2000) e inibidores enzimáticos (RICHARD-MERCIER *et al.*, 1995; GUIGUEN *et al.*, 1999; KITANO *et al.*, 2000; PHELPS & POPMA, 2000).

Metodologias comumente utilizadas em métodos diretos

As metodologias comumente utilizadas para estes tratamentos são as incorporações dos agentes alteradores de sexo na ração ou por imersão dos animais em solução contendo os respectivos agentes.

a) Manejo para incorporação do agente alterador de sexo à alimentação.

Neste caso, as respectivas dosagens dos agentes alteradores de sexo devem ser previamente determinadas e

^a NAKAMURA, M; TAKAHASHI, H. Sex control in cultured tilapia (*Tilapia mossambica*) and salmon (*Oncorhynchus masou*). In: LOFTS, B.; HOLMES, W. N. *Current Trends in Comparative Endocrinology*. Hong Kong: University Press, 1985. p. 1255-1260.

então estes compostos diluídos em solvente específico. Depois desses compostos serem diluídos e adicionados à ração, a mistura deve ser seca em temperatura ambiente e local sombreado.

As estruturas e manejos utilizados para a alimentação durante estes tratamentos são descritos a seguir conforme sugerido por KUBITZA (2000).

Tratamentos em tanques revestidos: Neste caso pode-se utilizar tanques desde 1 até 100 m², onde geralmente o material de revestimento é alvenaria, fibra de vidro ou plástico.

A densidade de estocagem irá variar conforme a vazão de água nas unidades, tamanho das larvas, disponibilidade de aeração, mas geralmente segue a seguinte regra:

- nos primeiros 5 a 7 dias aproximadamente 4.000 a 20.000 larvas/m³;
- do 7º ao 14º dia estocar de 3.000 a 14.000 larvas/m³;
- do 14º ao 30º dia estocar de 2.000 a 8.000 larvas/m³.

Reversão sexual em “hapas” ou gaiolas: Os “hapas” geralmente podem apresentar o tamanho variando de 1 a 50 m² e serem confeccionados em telas flexíveis de polietileno ou poliéster, com malha variando de 1 a 5 mm.

A densidade de estocagem das larvas irá variar segundo as mesmas variáveis descritas no item anterior, mas de forma geral podem ser seguidas as seguintes sugestões:

- nos primeiros 5 a 7 dias estocar de 8.000 a 15.000 larvas/m³ e malhas de 1,5 mm;
- do 7º ao 14º dia estocar de 6.000 a 12.000 larvas/m³ e malhas de 3 mm;
- do 14º ao 30º dia estocar de 5.000 a 10.000 larvas/m³ e malhas de 3 mm.

Reversão sexual com larvas soltas em viveiros: As larvas podem ser estocadas nos viveiros escavados que podem variar desde 100 até 1.500 m². As larvas devem ser estocadas em densidades de aproximadamente 400 a 600 larvas/m².

Estes viveiros devem receber calagem e adubação para manutenção da perfeita qualidade e quantidade de alimento natural.

Nos tipos de manejo descritos acima, as larvas devem ser alimentadas de 4 a 5 vezes por dia (SANCHES & HAYASHI, 2001) e a ração deve ser espalhada por toda a superfície do tanque, “hapa” ou viveiro. Em média, 600 a 800 g de ração são necessários para realizar os tratamentos com 1.000 alevinos de comprimento final médio em torno de 3 a 5 cm (KUBITZA, 2000).

Neste método podem ocorrer problemas de incompleta masculinização, feminilização ou esterilização, conforme o agente alterador de sexo utilizado e/ou mortalidade. Estes problemas podem ser relacionados com fatores que influenciam na taxa de obtenção de ração, como condições ambientais e hierarquias sociais (MACINTOSH & LITTLE, 1995).

b) Manejo para banhos de imersão em solução contendo agente alterador de sexo.

Imersão em solução contendo agente alterador de sexo é um método alternativo ao de incorporação à ração. Alguns experimentos desta natureza já têm sido realizados desde 1965 (PHELPS & POPMA, 2000). A partir daí vários autores têm realizado experimentos deste gênero com diversas espécies (GOETZ *et al.*, 1979; PIFERRER & DONALDSON, 1989; PIFERRER & DONALDSON, 1991; GALE *et al.*, 1999; PHELPS & POPMA, 2000).

Esta técnica, apesar de validada experimentalmente, ainda não é amplamente utilizada em sistemas de produção comercial. Pesquisas realizadas nesta área não apresentam uma padronização metodológica, apresentando uma grande variação quanto ao tempo de exposição das larvas ao agente alterador de sexo, idade das larvas, dose mínima efetiva, densidade de estocagem e condições ambientais durante o tratamento, levando a resultados diversos e de difícil comparação.

A imersão é vantajosa pois possibilita minimizar o efeito de algumas variáveis potencialmente influentes no método tradicional de incorporação de agentes alteradores de sexo à ração. MACINTOSH & LITTLE (1995) caracterizam tais variáveis como as hierarquias sociais e condições ambientais como temperatura, oxigênio e pH.

Assim, nos banhos de imersão é possível controlar de forma mais eficiente estas variáveis ambientais, além de que neste método, deixam de existir os efeitos das interações sociais de dominância sobre a taxa de obtenção de alimento e conseqüente ingestão do agente alterador de sexo. Além do mais, este método diminui o tempo de exposição do funcionário ao hormônio, por prole tratada e é ambientalmente mais seguro por possibilitar o armazenamento do resíduo para posterior degradação ou biofiltração (GALE *et al.*, 1999).

Apesar das vantagens descritas anteriormente, novos experimentos deverão ser realizados para que esta técnica seja melhor estudada e aprimorada. Assim os pontos de estrangulamento deste método poderão ser superados e então sua aplicação comercial viabilizada.

Masculinização por métodos diretos

a) Tratamentos hormonais

A masculinização por tratamentos hormonais atualmente é realizada em um grande número de espécies de peixes cultivados. Contudo os tratamentos hormonais têm sido mais eficientes nos ciclídeos, fato este devido à diferenciação sexual precoce destes peixes (PHELPS & POPMA, 2000). A eficiência dos tratamentos hormonais apresenta variação entre as espécies (PANDIAN & SHEELA, 1995). No grupo das tilápias, as espécies que apresentam características reprodutivas de incubação bucal (*Oreochromis*) mostram-se mais suscetíveis aos tratamentos hormonais (PHELPS & POPMA, 2000).

Estes hormônios apresentam duas características de ação fisiológica que são a atividade anabólica e atividade androgênica. Os andrógenos podem ser então classificados em dois grupos: a) derivados do “androstan”, que apresentam ambas as propriedades anabólicas e androgênicas; e b) os derivados do “19-n-androstan” que apresentam atividade anabólica, mas são fracamente androgênicos (CAMERINO & SCIAKY^b *apud* PHELPS & POPMA, 2000).

^b CAMERINO, B.; SCIAKY, R. Structure and effects of anabolic steroids. *Pharmacology and Therapeutics Part B*, v. 1, p. 233 – 275. 1975.

Uma ampla gama de hormônios tanto naturais como sintéticos tem sido utilizada com diferentes protocolos, em diferente espécies apresentando resultados variados

(YAMAMOTO, 1969; GOETZ *et al.*, 1979; YAMAZAKI, 1983; BORG, 1994; DONALDSON, 1996; PHELPS & POPMA, 2000). As tabelas 1 e 2 mostram alguns resultados obtidos na tilapicultura por diversos autores.

Tabela 1 - Resultados de masculinização por incorporação do andrógeno na alimentação (mg de hormônio/kg de alimento) obtidos para diferentes espécies de tilápia utilizando-se diferentes protocolos

Espécie	Andrógeno	Dose (mg/kg)	Tempo do tratamento (dias)	% machos
<i>O. aureus</i>	17 metiltestosterona	30 - 60	22	98 - 99 ⁴
<i>O. aureus</i>	1 - Dehidrotestosterona	15		69 ⁴
<i>O. aureus</i>	1 - Dehidrotestosterona	60		44 ⁴
<i>O. aureus</i>	Metiltestosterona	15	21	85 ¹
<i>O. mossambicus</i>	Mibolona	2		94 ⁴
<i>O. mossambicus</i>	19-norethisterona	1		52 ⁴
<i>O. mossambicus</i>	Metiltestosterona	30	69	100 ¹
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	30 - 60	25	99,2 - 100 ⁴
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	7,5	28	91,7 ⁴
<i>O. niloticus</i>	Fluxymesterona	5		100 ⁴
<i>O. niloticus</i>	Mestanolona	5		99,5 ⁴
<i>O. niloticus</i>	Metiltestosterona	30	59	100 ¹
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	30	20	75 ³
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	30	40	100 ³
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	60	28	97 - 100 ²
<i>O. niloticus</i>	17 metiltestosterona	100	60	67,86 ³

¹YAMAZAKI (1983); ²POPMA & GREEN(1990); ³CARVALHO & FORESTI (1996); ⁴PHELPS & POPMA (2000)

Tabela 2 - Resultados de masculinização por banhos de imersão (mg de hormônio/L de solução) obtidos para diferentes espécies de tilápia utilizando-se diferentes protocolos

Espécie	Dose/Andrógeno	n.º de banhos	Tempo do tratamento	% machos
<i>O. aureus</i>	400 g Testosterona /L	1	12 dias	89 ²
<i>O. aureus</i>	5000 g Adrenosterona /L			100 ²
<i>O. aureus</i>	600 - 1000 g Mestanolona /L	1	5 semanas	82 ²
<i>O. niloticus</i>	500 g Mestanolona /L	2	3 horas	94 ²
<i>O. niloticus</i>	500 g Metildihidrotestosterona /L	2	3 horas	100 ¹
<i>O. niloticus</i>	500 g 17 metiltestosterona /L	2	3 horas	52 ¹
<i>O. niloticus</i>	500 g Acetato de trembolona /L	1	2 horas	>90 ²

¹GALE *et al.* (1999); ²PHELPS & POPMA (2000)

Em geral os hormônios sintéticos são melhores quando administrados via oral, por serem mais resistentes aos processos digestivos em comparação ao hormônios naturais (PHELPS & POPMA, 2000).

A escolha certa do hormônio a ser utilizado é de grande importância para a eficiência e viabilidade dos tratamentos, devendo seguir cinco critérios: tempo da meia vida metabólica, custo, facilidade de obtenção, solubilidade em água e potencial androgênico.

PILLAY (1990) e POPMA & GREEN (1990) comentaram sobre a meia vida metabólica ou potencial residual da 17 a metiltestosterona na tilapicultura, afirmando que este esteróide foi rapidamente metabolizado e excretado pelo organismo, e que os tratamentos hormonais não alteraram as concentrações sanguíneas de testosterona circulantes após a idade de maturação sexual. Isto foi confirmado por PILLAY (1990), em condições de cultivo, onde tilápias adultas e revertidas sexualmente (idade superior à de maturação sexual) apresentaram uma menor concentração sanguínea deste esteróide em comparação com animais sexualmente ativos

(reprodutores não revertidos sexualmente) da mesma idade. LEONHARDT (1997), afirmou que, o esteróide 17 a metiltestosterona é eliminado logo após o término do tratamento hormonal, não sendo mais encontrado em peixes de 1 g, sugerindo não haver nenhum dano ao consumidor.

O último critério, o potencial androgênico, está intimamente relacionado com a presença de receptores específicos, ou seja, muitas vezes andrógenos potentes estão presentes na corrente sanguínea em elevadas concentrações, contudo não potencializam suas funções devido à falta destes receptores (BORG, 1994).

Atualmente o método comumente utilizado para a reversão sexual de tilápias é a incorporação de hormônios esteróides à ração (POPMA & GREEN, 1990; MACINTOSH & LITTLE, 1995; LEONHARDT, 1997; PHELPS & POPMA, 2000). O hormônio mais utilizado neste processo, provavelmente devido a seu potencial androgênico, facilidade de obtenção e baixo custo, é o andrógeno sintético 17 a metiltestosterona (PHELPS & POPMA, 2000), um derivado metilado da testosterona (PIFERRER & DONALDSON,

1991).

Neste caso, para *O. niloticus*, são utilizados entre 30 e 60 mg de 17 a metiltestosterona/kg de ração, durante um período de 28 a 30 dias. O veículo de diluição do hormônio utilizado é o álcool etílico, onde o hormônio deve ser previamente diluído. São utilizados entre 350 a 400 ml de álcool/kg de ração.

Nestes tratamentos pode ocorrer um efeito chamado de "efeito paradoxal de feminilização", o qual se refere à resposta contrária à masculinização, com a utilização de elevadas dosagens de andrógenos. Este efeito paradoxal já foi constatado por diversos autores (YAMAMOTO, 1969; PIFERRER & DONALDSON, 1991; CARVALHO & FORESTI, 1996; DONALDSON, 1996), onde utilizando dosagens crescentes de andrógenos, observaram um comportamento quadrático com relação à masculinização, ou seja, a partir de um ponto de máxima masculinização, dosagens superiores de andrógenos provocam a feminilização.

Segundo NAKAMURA^c apud PIFERRER & DONALDSON (1991); VAN DEN HURK^d et al. apud CARVALHO & FORESTI (1996) e GANNAM & LOVELL^e apud CARVALHO & FORESTI (1996), uma das possíveis causas deste fenômeno é o processo chamado de aromatização, onde a enzima aromatase converte o excesso de andrógeno exógeno em estrógenos.

Esta afirmação condiz com os resultados de PIFERRER & DONALDSON (1991), que realizaram banhos de imersão em salmões (*Oncorhynchus kisutch*) utilizando 17 a metildihidrotestosterona (andrógeno não aromatizável) e 17 a metiltestosterona (andrógeno aromatizável). Eles constataram que o efeito paradoxal de feminilização ocorreu somente em altas concentrações do hormônio aromatizável.

b) Tratamentos com inibidores enzimáticos e/ou antiestrógenos

A utilização de hormônios esteróides durante a fase de reversão sexual em tilápias cultivadas tem sido bastante questionada devido ao seu potencial residual. Uma alternativa aos tratamentos hormonais é a utilização de compostos não esteróides que possam interferir no metabolismo dos hormônios esteróides endógenos, antes ou durante o período de diferenciação sexual.

Uma série de eventos metabólicos que antecedem a produção dos hormônios andrógenos importantes na diferenciação sexual são dependentes da enzima citocromo P450 aromatase. Esta enzima atua na produção de estrógenos, utilizando precursores androgênicos comuns aos hormônios masculinos e femininos para conversão em estrógenos (Figura 1) (GRANNER, 1998; KITANO et al., 1999; BARAS et al., 2000).

Duas alternativas podem ser utilizadas nestes casos: utilização de compostos inibidores desta enzima e/ou utilização de compostos antiestrógenos.

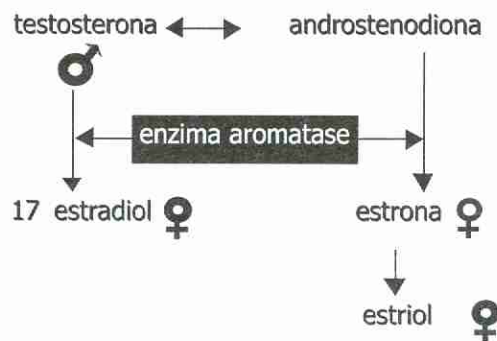


Figura 1 - Esquema simplificado da síntese de hormônios esteróides. Adaptado de STABENFELD & EDQVIST (1996); GRANNER (1998)

A primeira alternativa está baseada na utilização de compostos que apresentam grande semelhança estrutural quando comparados aos substratos específicos da aromatase (testosterona e androstenodiona), competindo reversivelmente pelo sítio ativo da enzima. Bioquimicamente classificados como inibidores competitivos, diversos princípios ativos podem ser utilizados para este propósito como: Fadrozol, Letrozol, Anastrozol e Vorozol.

Vários experimentos deste gênero têm sido realizados com anfíbios (RICHARD-MERCIER et al., 1995) e peixes (PIFERRER et al.^f apud PHELPS & POPMA, 2000; KITANO et al., 2000; AFONSO et al., 2001), com bons resultados. KWON et al. (2000) e AFONSO et al. (2001) obtiveram 92,5 - 96% e 100% de masculinização em *O. niloticus*, utilizando Fadrozol incorporado à ração. Apesar de apresentar bons resultados, esta prática ainda não é utilizada comercialmente devido à falta de um protocolo específico para sua utilização e seus custos.

A segunda alternativa, a utilização de compostos antiestrógenos, possui mecanismo de atuação semelhante aos inibidores enzimáticos. Estes compostos se ligam aos receptores intranucleares específicos dos hormônios esteróides impedindo a produção dos estrógenos (LEHNINGER et al., 1995). Bons resultados têm sido alcançados com esta prática na tilapicultura, HINES e WATTS^g apud PHELPS & POPMA (2000) obtiveram 100% de masculinização quando utilizaram o antiestrógeno "Tamoxifen" incorporado à alimentação na concentração de 100 mg/kg de ração.

Feminilização por métodos diretos

A produção de fêmeas não é desejada para as condições de cultivo. Contudo esta prática tem sido desenvolvida na tilapicultura com a finalidade de feminilização de machos genéticos, para a posterior produção de machos homogaméticos (YY) conhecidos comumente como "super-machos", em programas de cruzamento (MÉLARD, 1995; PANDIAN & SHEELA, 1995; DONALDSON, 1996; PHELPS & POPMA, 2000). Estes machos quando cruzados

^c NAKAMURA, M. *Morphological and experimental studies on sex differentiation of gonad of several teleost fishes*. Hokkaido, 1978. 174 f. Tese (Ph. D.) - Setor de Peixes, Universidade de Hokkaido.

^d VAN DEN HURK, R. et al. Effects of 17 a metiltestosterone and 11-alpha-hidroxiandrostenodione on gonadal differentiation in the African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, v. 83, p. 179 - 191. 1989.

^e GANNAM, A. L.; LOVELL, R. T. Effects of feeding 17 alpha metiltestosterone, 11 - ketotestosterone, 17 - beta - estradiol and 3, 5, 3' triiodothyronine to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, v. 92, p. 377 - 388. 1991.

^f PIFERRER, F. et al. Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation cause chromosomally female salmon to develop as normal, functional males. *Journal of Experimental Zoology*, v. 270, p. 255 - 262. 1994.

^g HINES, G. A.; WATTS, S. A. Non-steroidal chemical sex manipulation of tilapia. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 26, p. 98 - 102. 1995.

com fêmeas normais produzem, teoricamente, proles 100% masculinas (DONALDSON, 1996).

Os agentes alteradores de sexo que induzem a feminilização são os hormônios estrógenos. Esta prática obedece aos mesmos princípios descritos para a masculinização a partir de tratamentos hormonais.

Estrona e 17 b estradiol são dois estrógenos naturais encontrados nos ovários de tilápias (PHELPS & POPMA, 2000). Apesar dos hormônios sintéticos serem mais potentes quando administrados oralmente, devido à sua maior resistência à atividade digestiva, entre os estrógenos os hormônios preferencialmente utilizados são: o 17 b Estradiol

(PANDIAN & SHEELA, 1995) e os sintéticos etinilestradiol (EE) e dietilstibestrol (DES) (YAMAZAKI, 1983; PHELPS & POPMA, 2000).

A feminilização é mais difícil de ser obtida, em comparação à masculinização, quando realizada pela incorporação do agente alterador de sexo na ração (PHELPS & POPMA, 2000). Em banhos de imersão esta prática não tem se mostrado eficaz (PANDIAN & SHEELA, 1995), além de apresentar altos índices de mortalidade devido à toxidez (PHELPS & POPMA, 2000). A tabela 3 mostra alguns resultados de tratamentos de feminilização, utilizando-se diferentes protocolos para tilápias.

Tabela 3 - Resultados diversos para feminilização de tilápias, com incorporação do agente alterador de sexo à ração, em diferentes protocolos

Espécie	Duração do tratamento (dias)	Dose (mg de esteróide/kg de dieta)	% Fêmeas
<i>O. niloticus</i>	14	100 DES ou 75 EE	100 ¹
<i>O. aureus</i>	30	100 DES	98 – 100 ¹
<i>O. aureus</i>	35	100 DES	64 ¹
<i>O. aureus</i>		220 17 Estradiol	59 ¹
<i>O. niloticus</i>	28	400 DES	80 ¹
<i>O. niloticus</i>	28	200 EE	65 ¹
<i>O. niloticus</i>	34	25 e 100 DES	73 – 90 ²
<i>T. mossambica</i>	19	50 EE	100 ²

¹PHELPS & POPMA (2000) e ²YAMAZAKI (1983).

Esterilização por métodos diretos

Este procedimento não está baseado na produção de populações monossexo (masculinas ou femininas), mas sim no controle reprodutivo das tilápias por esterilização. O efeito destes tratamentos provoca uma redução do índice gonadossomático (IGS), tanto dos machos quanto das fêmeas, além de prevenir a manifestação das características sexuais secundárias e reprodutivas.

Diversos compostos podem ser utilizados para este fim. Agentes quimioesterilizantes (PHELPS & POPMA, 2000), andrógenos e estrógenos podem provocar danos nas gônadas, resultando em indivíduos estéreis (PIFERRER & DONALDSON, 1993; CARVALHO & FORESTI, 1996). Estes tratamentos apresentam resultados variados conforme o método de administração (na ração ou banhos), natureza química, dosagens e tempo de exposição. A tabela 4 mostra alguns resultados obtidos com tilápias submetidas a tratamentos deste gênero.

Tabela 4 - Resultados de esterilização obtidos com tilápias utilizando diferentes protocolos

Espécie	Tipo de tratamento	Dose e agente esterilizante	Tempo de exposição (dias)	Degeneração da gônada (%)
<i>O. aureus</i>	imersão	50 g difosfato de stilbestrol/L	14	100 ²
<i>O. aureus</i>	imersão	5 mg adrenosterona/L		55 ²
<i>O. aureus</i>	alimentação	20 ppm metepa e 0,8 ppm tretamne		100 ²
<i>O. niloticus</i>	imersão	Altas doses de metiltestosterona	20 – 60	Reduz Índice Gonadossomático ¹

¹CARVALHO & FORESTI (1996); ²PHELPS & POPMA (2000)

Métodos indiretos

Produção de população monossexo por hibridação

Este método baseia-se no cruzamento entre machos homogaméticos de uma espécie e fêmeas homogaméticas de outra espécie, resultando em proles híbridas totalmente masculinas (PHELPS & POPMA, 2000).

Os primeiros experimentos, utilizando hibridação para a produção de proles monossexuais foram realizadas no final de 1950, onde o pesquisador C. F. Hickling identificou acidentalmente que o cruzamento entre *O. mossambicus* e *O.*

honorum produzia uma prole 100% masculina (MCANDREW, 1993; PENMAN & MCANDREW, 2000). Hickling na época, trabalhava na Estação Malacca na Indonésia, onde desenvolvia um programa de melhoramento de *O. mossambicus* (espécie cultivada naquela região da Ásia).

No intuito de produzir peixes estéreis por hibridação Hickling importou uma nova linhagem de *O. mossambicus* de Zanzibar. Eles constataram que cruzamentos utilizando fêmeas da linhagem pré-existente com machos da linhagem de Zanzibar produzia proles 100% masculinas e cruzamentos recíprocos proles 75% masculinas. Assim com esta tecnologia simples, os diversos problemas com relação à reprodução

indesejada foram sanados. Contudo, algum tempo mais tarde, em análises subseqüentes da linhagem Zanzibar, constatou-se que esta não era *O. mossambicus* e sim *O. urolepsis hornorum*, difundindo assim esta linhagem por todo o mundo (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Neste sentido diversos estudos relacionados com hibridação foram direcionados para a busca de híbridos entre

as diversas espécies de tilápia que apresentassem melhores características comerciais. Assim, após vários experimentos, pode-se notar que nem todos os cruzamentos produzem proles 100% masculinas, permanecendo apenas algumas poucas espécies de valor comercial. A tabela 5 mostra alguns dos diversos resultados obtidos com diferentes cruzamentos.

Tabela 5 - Resultados obtidos de diferentes híbridos de tilápia em condições controladas

Cruzamento	Machos (%)	Comentários
<i>O. niloticus</i> X <i>O. aureus</i>	52 – 100	Ocasionalmente um único par produz prole 100% masculina.
<i>O. niloticus</i> X <i>O. hornorum</i>	100	100% machos quando cruzamentos são realizados com linhagens puras.
<i>O. niloticus</i> X <i>O. mossambicus</i>	3,6 – 72	Resultados altamente dependentes da linhagem.
<i>O. niloticus</i> X <i>O. macrochir</i>	56,5 – 100	Somente algumas linhagem produzem 100% machos.
<i>O. mossambicus</i> X <i>O. aureus</i>	49 – 89	Incapaz de produzir 100% machos.
<i>O. mossambicus</i> X <i>O. hornorum</i>	49,6 – 100	
<i>O. mossambicus</i> X <i>O. macrochir</i>	100	Potencialmente aplicável.
<i>O. mossambicus</i> X <i>O. spilurus</i>	30 – 36	
<i>O. hornorum</i> X <i>O. aureus</i>	97	
<i>T. zili</i> X <i>T. rendali</i>	50	
<i>T. zili</i> X <i>O. mossambicus</i> ou <i>O. niloticus</i>	100	
<i>S. melanotheron</i> X <i>O. mossambicus</i> ou <i>O. niloticus</i>	0	
<i>S. galileous</i> X <i>O. niloticus</i>	75	

Adaptado de MCANDREW (1993)

Dentro desta grande variedade de resultados, segundo MCANDREW (1993) e PENMAN & MCANDREW (2000), atualmente os cruzamentos mais utilizados comercialmente são os descritos na tabela 6.

Tabela 6 - Cruzamentos mais utilizados atualmente, em escala comercial, para a produção de proles masculinas na tilapicultura

Fêmea	Macho	% de machos em F1
<i>O. mossambicus</i>	<i>O. hornorum</i>	100 em linhagens puras
<i>O. niloticus</i>	<i>O. hornorum</i>	100 em linhagens puras
<i>O. niloticus</i>	<i>O. macrochir</i>	100 em linhagens selecionadas
<i>O. niloticus</i>	<i>O. aureus</i>	70 - 80

Adaptado de MCANDREW (1993)

A figura 2 mostra um esquema ilustrativo de manejo de hibridação utilizado no nordeste brasileiro.

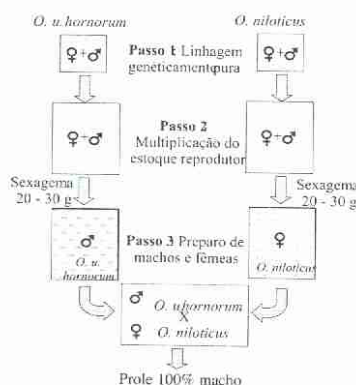


Figura 2 - Esquema ilustrativo do sistema de produção de híbridos no nordeste brasileiro - DNOCS. Adaptado de PILLAY (1990)

Além da produção de proles 100% masculinas, a hibridação proporciona um aumento no desempenho dos animais, como a melhora nas taxas de crescimento, tolerância ao frio e melhora na coloração, aumentando assim o valor comercial do produto (PILLAY, 1990). Cruzamentos entre *O. niloticus* X *O. aureus* em Israel, tem proporcionado proles com elevados índices de machos e com maior tolerância ao frio em comparação à linhagem pura de *O. niloticus* (PENMAN & MCANDREW, 2000). Cruzamentos entre *O. niloticus* X *Sarotherodon melanotheron* (BAROILLER *et al.* 2000c) e outros, onde os híbridos apresentam a contribuição de *O. mossambicus* (KUBITZA, 2000), apresentam maior tolerância à salinidade.

Um outro híbrido que tem recebido atenção especial é a tilápia vermelha, que apresenta uma coloração rosada, amarela ou dourada. Além deste peixe ser mais apreciado no mercado consumidor que as tilápias com coloração normal, cinza ou preta, elas apresentam um melhor crescimento e conversão alimentar. Diversos híbridos deste tipo podem ser obtidos por outros cruzamentos, como por exemplo nas Filipinas, tilápias semelhantes, vermelho - alaranjadas ou douradas, podem ser obtidas pelo cruzamento entre uma fêmea híbrida de *O. mossambicus* X *O. hornorum* com uma linhagem de *O. niloticus* (PILLAY, 1990).

Apesar do vigor híbrido e da produção de população monosexo, o processo de hibridação é de certa forma limitado para aplicações em escala comercial. Este fato se dá basicamente por dois fatores, pela dificuldade em realizar manejo eficiente que mantenha a pureza genética do lote fundador (isolamento dos viveiros); e mesmo em lotes puros pode ocorrer a interferência devido a outros fatores genéticos, que podem influenciar a manifestação dos genes presentes

nos cromossomos Y e Z (PILLAY, 1990; MCANDREW, 1993; KUBITZA, 2000; PENMAN & MCANDREW, 2000; PHELPS & POPMA, 2000).

Atualmente a hibridação deixou de ser utilizada como técnica de obtenção de populações monosséxo, sendo mais utilizada como sistema de produção de híbridos vermelhos (KUBITZA, 2000).

Manipulação ambiental: temperatura, salinidade, pH, fotoperíodo e densidade

A temperatura exerce influência sobre os processos de diferenciação sexual, tanto em peixes (YAMAMOTO, 1969; DESPREZ & MÉLARD, 1998; KITANO *et al.*, 1999; BAROILLER *et al.*, 2000a; BAROILLER *et al.*, 2000b), quanto em anfíbios (CHARDARD *et al.*, 1995). Esta influência se deve a alterações metabólicas na produção de hormônios. A temperatura parece exercer influência direta sobre a síntese da enzima citocromo P450 aromatase (CHARDARD *et al.*, 1995; KITANO *et al.*, 1999; BAROILLER *et al.*, 2000b; KITANO *et al.*, 2000).

Evidências de masculinização têm sido relatadas principalmente em experimentos utilizando tratamentos com temperaturas elevadas, dentro do período termosensível da espécie (CHARDARD *et al.*, 1995; DESPREZ & MÉLARD, 1998; BAROILLER *et al.*, 2000a). Altas temperaturas inibem a síntese desta enzima, reduzindo suas concentrações nas gônadas. Segundo KITANO *et al.* (1999), em "Japanese flounder" (*Paralichthys olivaceus*), os baixos níveis de aromatase são um pré-requisito para a diferenciação testicular e o contrário é válido para a diferenciação ovariana. Estas afirmações podem ser confirmadas pelos relatos de RICHARD-MERCIER *et al.* (1995), que observaram níveis altos, intermediários e baixos da enzima aromatase em ovários, ovotestes e testículos, respectivamente. BAROILLER & D'COTTA (2001) também afirmam esta relação de termosensibilidade e diferenciação sexual, existente em tilápias, onde a proporção de machos aumenta com o aumento da temperatura, sendo o inverso também válido para a proporção de fêmeas.

Estudos recentes com *O. aureus*, têm mostrado que condições de oscilações de temperaturas durante os períodos de termosensibilidade, apesar de produzir significantes alterações nas taxas sexuais, apresentam um menor potencial de masculinização quando comparados com altas temperaturas estáveis (BARAS *et al.*, 2000).

DESPREZ & MÉLARD (1998) cultivaram larvas de *O. aureus* com idade de 9 dias após a eclosão, por um período de 40 dias a temperaturas de 21°C, 27°C e 34°C. Eles observaram que os indivíduos cultivados em altas temperaturas apresentaram uma alta taxa de masculinização (97,8%). Os indivíduos cultivados em temperatura intermediária apresentaram índice de masculinização intermediário (63,0%). Aqueles cultivados em baixa temperatura retardaram o processo de diferenciação (a grande maioria apresentou-se indiferenciada sexualmente). Neste mesmo sentido, BARAS *et al.* (2001) também alcançaram bons resultados com tratamentos térmicos aplicados em *O. niloticus*, chegando a 100% de machos quando submetidos a temperatura de 36,5 ± 0,5°C, por um período de 28 dias.

BAROILLER & D'COTTA (2001) sugerem a

existência de uma forte interação entre a temperatura e o genótipo, uma vez que uma grande variabilidade na termosensibilidade tem sido constada dependendo da progênie, dentro da mesma linhagem. Por outro lado, a proporção sexual e termosensibilidade são constantes em progênies provenientes do mesmo casal de reprodutores.

Outros autores realizaram a manipulação de outras variáveis ambientais durante a diferenciação sexual. ABUCAY *et al.* (1999) constataram que a salinidade não mostra efeito significativo sobre a diferenciação sexual. Segundo BAROILLER e D'COTTA (2001), as variáveis ambientais como pH, fotoperíodo e densidade, não se apresentaram como fatores potencialmente influentes na diferenciação sexual em tilápias.

Triploidia

A indução à triploidia tem sido alcançada em diversas espécies de peixes, com o objetivo de controlar a maturação e reprodução indesejada das populações cultivadas. Este procedimento tem sido realizado utilizando-se tratamentos com choques de pressão e temperatura (calor ou frio) (YAMAZAKI, 1983; MCANDREW, 1993; DONALDSON, 1996; PENMAN & MCANDREW, 2000).

Comumente às outras espécies, as fêmeas triploides de tilápia apresentam um menor índice gonadossomático (IGS) e os ovários apresentam um menor número de ovogônias ou ovócitos pré-vitelogênicos em comparação com as fêmeas diplóides, sendo assim geralmente estéreis e incapazes de produzir gametas viáveis. Nos machos, apesar de apresentarem os testículos com tamanho semelhante aos machos diplóides e poderem produzir esperma viável para fertilização de ovos, as proles morrem antes da absorção do saco vitelino (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Experimentos mostram também que fêmeas triploides, quando comparadas com diplóides apresentam menores concentrações dos hormônios esteróides, testosterona e 17 b estradiol, que estão correlacionadas com a grande redução da população das células foliculares nos ovários. Este fato resulta em uma redução das características sexuais secundárias das fêmeas. Logo, com relação aos machos, este efeito não se mostra significativo, visto que estes indivíduos, por produzirem espermatozoides, possuem células esteroidogênicas (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Em condições semelhantes de cultivo, indivíduos triploides crescem tão bem quanto os diplóides. Alguns estudos realizados na Nigéria, comparando o desempenho de triploides e diplóides de *O. niloticus*, em viveiros de terra, mostraram resultados de peso final superiores para machos e fêmeas triploide: 66% e 90% respectivamente (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Apesar da grande difusão desta prática em outras espécies de peixes, na tilapicultura é improvável a sua aplicação em escala comercial, devido principalmente a fatores como a baixa viabilidade das proles, o pequeno número de ovos obtidos por cada desova, intensa mão-de-obra para coleta dos ovos e o limitado intervalo de tempo para a realização do tratamento, que é de 5 - 9 minutos após a fertilização (MCANDREW, 1993).

Uma alternativa para estes problemas, que inviabilizam a produção em larga escala de tilápias triploides, pode

ser uma adaptação da metodologia empregada para outras espécies, utilizando cruzamento entre machos tetraplóides e fêmeas diplóides, produzindo assim sempre uma prole triploide. As dificuldades desta metodologia em tilápias, são os problemas relacionados com a baixa viabilidade dos embriões tetraplóides (MCANDREW, 1993; PENMAN & MCANDREW, 2000).

Combinação entre tratamento hormonal e manipulação genética

Este procedimento está baseado, no caso de *O. niloticus*, onde os genótipos masculino e feminino são XY e XX, respectivamente, na produção de machos homogaméticos (YY) a partir da combinação entre tratamentos hormonais de feminilização e posterior cruzamentos destas fêmeas fenotípicas com machos normais (SCOTT *et al.*, 1989). A identificação dos machos homogaméticos (YY) é realizada a partir de testes de progênie (KUBITZA, 2000; PENMAN & MCANDREW, 2000). Para a espécie que apresenta o genótipo masculino e feminino ZZ e ZW, respectivamente, como por exemplo *O. aureus* o mesmo princípio é usado com resultados satisfatórios (MÉLARD, 1995).

No caso de *O. niloticus*, primeiramente os indivíduos em estágio de diferenciação sexual indefinido sofrem o tratamento com hormônios estrogênicos como o etinilestradiol, como descrito anteriormente em feminilização por métodos diretos. Em seguida estas fêmeas revertidas sexualmente são cruzadas com machos normais. As fêmeas XX produzirão proles compostas por 50% de machos XY e 50% de fêmeas XX, e as pseudofêmeas XY produzirão proles contendo 75% de machos (50% machos XY e 25% machos YY) e 25% de fêmeas (Figura 3). As fêmeas XY são identificadas por testes de progênie e selecionadas, enquanto as demais são descartadas.

Semelhantemente ao passo anterior, os machos advindos das proles das fêmeas XY serão submetidos a sucessivos cruzamentos com fêmeas normais. Os machos XY produzirão proles 50% feminina e 50% masculina e os machos YY produzirão proles 100% masculinas (Figura 3). Novamente são empregados testes de progênie para identificar os machos YY.

Um procedimento que pode ser utilizado para a continuidade da produção de super machos YY em escala comercial é, depois da identificação das proles masculinas YY, submetê-las a tratamentos hormonais com estrógenos para a produção de pseudofêmeas YY. Assim o cruzamento entre super-machos YY e pseudofêmeas YY proporcionará proles 100% masculinas YY. Um ponto limitante deste último procedimento está baseado na manutenção da pureza dos indivíduos YY, pela contaminação por machos normais XY (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Entretanto nem sempre é possível a obtenção de proles 100% masculinas, podendo ocorrer algumas variações devido à influência de fatores genéticos e ambientais (PENMAN & MCANDREW, 2000). A obtenção dos super-machos é um processo muito trabalhoso, que exige um uma boa estrutura para reprodução e um sério controle de marcação das progênies. Segundo KUBITZA (2000), utilizando-se as ferramentas tradicionais, geralmente são necessários quatro a cinco anos para completar o ciclo para produção do super-

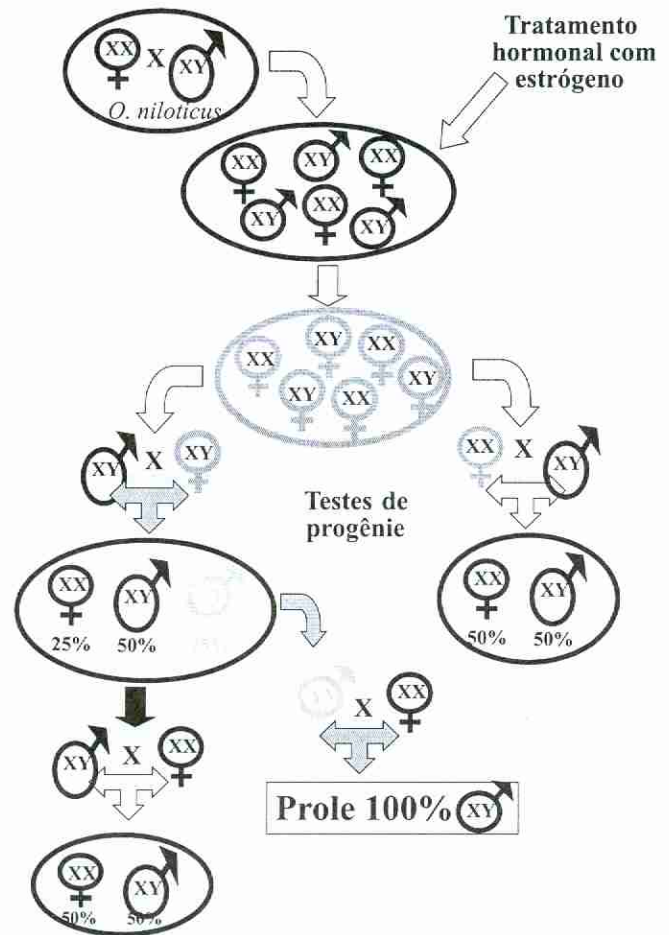


Figura 3 - Desenho esquemático dos passos seguidos na produção de machos homogaméticos ou super-machos YY para *O. niloticus*

macho. Por outro lado, a utilização de ferramentas como o auxílio de marcadores moleculares, são métodos que poderiam reduzir este tempo (PENMAN & MCANDREW, 2000).

Considerações Finais

Atualmente, quando se fala em cultivo de tilápias, é indiscutível a necessidade da utilização de indivíduos monossexuais (especialmente machos) para viabilizar seu cultivo. Apesar dos métodos diretos que empregam hormônios esteróides serem, nos dias de hoje os mais difundidos, já existe uma tendência de utilização das técnicas indiretas e diretas que não utilizam estes compostos. Este fato se dá principalmente devido à preocupação do mercado consumidor com o meio ambiente e a saúde humana.

Referências

- ABUCAY, J. S. *et al.* Environmental sex determination: effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, Amsterdam, v.173, p.219-234. 1999.
- AFONSO, L. O.; WASSERMANN, G. J.; TEREZINHA DE OLIVEIRA, R. Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a nonsteroidal aromatase inhibitor. *The Journal of Experimental Zoology*, New York, v.290, n.2, p.177 - 181. 2001.
- ALVENIDA-CASAUAY, A.; CARIÑO, V. S. Gonadal sex differentiation in *Oreochromis niloticus*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 2, 1988, Manila. *Proceedings...* Manila: ICLARM, 1988. p.121 - 124.

- BARAS, E.; JACOBS, B.; MÉLARD, C. Effects of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX – XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 192, p.187-199. 2001.
- BARAS, E. *et al.* Phenotypic sex differentiation of blue tilapia under constant and fluctuating thermal regimes and its adaptive and evolutionary implications. *Journal of Fish Biology*, London, v. 57, p.210-223. 2000.
- BAROILLER, J. F. *et al.* Production of two reciprocal intergeneric hybrids between *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5, 2000, Rio de Janeiro. *Proceedings...* Rio de Janeiro: American Tilapia Association, 2000c. p. 11.
- BAROILLER, J. F.; CLOTA, F.; D´COTTA, H. Genetic and environmental sex determination in tilapias: a review. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5, 2000, Rio de Janeiro. *Proceedings...* Rio de Janeiro: American Tilapia Association, 2000a. p. 81.
- BAROILLER, J. F.; D´COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, Oxford, v. 130, p.399-409. 2001.
- BAROILLER, J. F. *et al.* Role involvement of gonadal steroids and temperature during natural and temperature – induced sex differentiation of the tilapia *Oreochromis niloticus*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5, 2000, Rio de Janeiro. *Proceedings...* Rio de Janeiro: American Tilapia Association, 2000b. p. 82.
- BORG, B. Androgens in teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology – Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, Oxford, v.109, n.3, p.219 – 245. 1994.
- CARVALHO, E. D. *Indução da reversão de sexo em Oreochromis niloticus (Tilapia do Nilo) com o uso do hormônio masculinizante 17 a metiltestosterona: frequência de machos e crescimento*. São Carlos, 1985. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos.
- CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Reversão de sexo em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* Trewavas, 1983, induzida por 17 a metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, v.56, n.2, p.249 – 262. 1996.
- 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. *General and Comparative Endocrinology*, Orlando, v.99, n.1, p.100-107. 1995.
- DELVIN, R. H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, Amsterdam, v.208, p.191-364. 2002.
- 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.
- DONALDSON, E. M. Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v.42, p.381 – 392. 1996.
- 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 17b and 17 a methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.17, p.267 – 278. 1979.
- GRANNER, D. K. Restraint. In:_____. *Harper Bioquímica*. São Paulo: Atheneu Editora, 1998. p. 566 – 580.
- GUIGUEN, Y. *et al.* Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Molecular Reproduction and Development*, Hamburg, v.54, n.2, p.154 – 162. 1999.
- KITANO, T. *et al.* Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Molecular Endocrinology*, Bristol, v.23, n.2, p.167 – 176. 1999.
- KITANO, T. *et al.* Aromatase inhibitor and 17 a methyltestosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Molecular Reproduction and Development*, Hamburg, v.56, n.1, p.1 – 5. 2000.
- KUBITZA, F. *Tilápia – tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000.
- KWON, J. Y. *et al.* Masculinization of genetic female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary administration of an aromatase inhibitor during sexual differentiation. *The Journal of Experimental Zoology*, New York, v.287, n.1, p.46 – 53. 2000.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios da bioquímica*. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda, 1995.
- LEONHARDT, J. H. *Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757)*. Jaboticabal, 1997. 128 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Setor de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista.
- 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. p. 277 – 320.
- MCANDREW, B. J. Sex control in tilapiines. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R. J. *Recent Advances in Aquaculture IV*. London: Blackwell Scientific Publications, 1993. p. 87 – 98.
- MÉLARD, C. Production of a high percentage of male offspring with 17 a ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I – Estrogen Sex-reversal and production of F2 pseudofemales. *Aquaculture*, Amsterdam, v.130, p.25 – 34. 1995.
- 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, 2002. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá.

- 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.
- 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: _____. *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. *Tilapia Aquaculture in the Americas - volume two*. Louisiana: World Aquaculture Society, 2000. p. 34 – 59.
- 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*, 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. p.69 – 77.
- PILLAY, T. V. R. *AQUACULTURE – Principles and Practices*. London: Blackwell Scientific Publications, 1990.
- POPMA, T. J.; GREEN, B. W. Aquacultural production manual: sex reversal of tilapia in earthen ponds. *Research and Development Series*, Alabama, v.35, p.1 – 15. 1990.
- RICHARD-MERCIER, N. *et al.* Endocrine sex reversal of gonads by the aromatase inhibitor letrozole (cgs 20267) in *Emys orbicularis*, a turtle with temperature-dependent sex determination. *General and Comparative Endocrinology*, Orlando, v.100, n.3, p.314 – 326. 1995.
- 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.
- SCOTT, A. G.; PENMAN, D. J.; BEARDMORE, J. A. *et al.* The 'YY' supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. *Aquaculture*, Amsterdam, v.78, p. 237-251. 1989.
- STABENFELD, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos na fêmea. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.615 – 644.
- TURNER, G. F.; ROBINSON, R. L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MCANDREW, B. J. *Tilapias: Biology and Exploitation*. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.33 – 58.
- YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W. S.; RANDALL D. J. *Fish Physiology- vol. III*. New York: Academic Press, 1969. p. 117 – 175.
- YAMAZAKI, F. Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture*, Amsterdam, v.33, p.329 – 354. 1983.

Recebido para publicação em 11/06/2003.

Received for publication on 11 June 2003.

Recibido para publicación en 11/06/2003.

Aceito para publicação em 14/09/2003.

Accepted for publication on 14 September 2003.

Acepto para publicación en 14/09/2003.