

MARIA GORETTI SOARES

**ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DE
GÔNADAS DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS HORMONAIS COM α -
17 METIL TESTOSTERONA E β - ESTRADIOL**

**RECIFE
2012**

MARIA GORETTI SOARES

**ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DE
GÔNADAS DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS HORMONAIS COM α -
17 METIL TESTOSTERONA E β – ESTRADIOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal na área de Morfofisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Orientador:
Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

RECIFE
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DE GÔNADAS
DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A
TRATAMENTOS HORMONAIS COM α - 17 METIL
TESTOSTERONA E β – ESTRADIOL**

Tese de Doutorado Elaborada Por

MARIA GORETTI SOARES

Aprovada em _____ de fevereiro de 2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE

Profa. Dra. Juliana Pinto de Medeiros
Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE

**RECIFE
2012**

“O Senhor é meu pastor, Nada me faltará.”

(Salmo 23)

**“Comece por fazer o que é necessário, depois o que é possível
e de repente estará a fazer o impossível.”**

(São Francisco de Assis)

**“É graça divina começar bem.
Graça maior persistir na caminhada certa.
Mas, graça das graças é não desistir nunca.”**

(Dom Hélder Câmara)

DEDICATÓRIA

À Deus, por me iluminar e mostrar o verdadeiro caminho a seguir.

Aos meus pais, que sempre me apoiaram e me deram exemplos de vida.

A minha Tia Ivone.

Aos meus irmãos.

Aos meus sobrinhos.

A minha amiga Mariana Rêgo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, eterno condutor de minha vida.

A minha família e amigos que sempre torceram junto comigo na realização dos meus objetivos, sobretudo deste trabalho.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto.

À minha amiga e colaboradora Mariana Rêgo.

Ao Prof. Msc. Antônio Pedro Soares.

As minhas amigas Keila Regina e Jacqueline Barbosa.

As minhas cunhadas Gerlane e Janete e meu cunhado Renan.

Ao Prof. Dr. Athiê Jorge Guerra Santos pelo apoio e suporte para realização da pesquisa.

À Base de Piscicultura do Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE por nos acolher e dar suporte na realização do experimento, em especial aos colaboradores Dijaci e Ana.

Aos professores, colegas e funcionários do DMFA em especial ao Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá.

Ao amigo Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Júnior.

À Edna Chérias pela colaboração durante a realização do curso.

As Colegas do Laboratório Histologia Maria Edna, Ana Lízia, Wanessa, Danielle, Carolina e Gabriela pelos encontros, conversas e ajuda.

Ao antigo amigo Felipe Bastos e ao novo amigo Cristiano Rocha pela convivência.

Aos amigos e também colegas de trabalho da Faculdade de Formação de Professores de Belo Jardim – FABEJA, Mirivaldo Barros, Eliezer Aciole, Juciara Tenório, Vanessa Torres, Márcia Assunção, Jorge Coelho e em especial Luzia Squinca e Cristiana Ramos por todo apoio e incentivo.

Aos meus alunos que sempre me incentivaram e me empurraram para frente, especialmente Amanda Almeida, Letícia, Laíse e Lívia Rodrigues.

À Alexandre Fernandes por todo carinho e apoio.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

E por fim, aos animais que fizeram parte deste trabalho.

RESUMO

A aquicultura mundial está crescendo mais rápido do que qualquer outra atividade do setor primário. O Brasil reúne condições extremamente favoráveis à piscicultura, além do grande potencial de mercado, o país conta com clima favorável, boa disponibilidade de áreas, grandes safras de grãos e invejável potencial hídrico. As tilápias são nativas do continente africano e da Ásia menor. Cerca de 70 espécies estão taxonomicamente classificadas. A tilápia está amplamente distribuída pelo território brasileiro e é criada nos mais diversos sistemas de produção. O desenvolvimento e a intensificação da piscicultura são dependentes do sucesso no controle e manipulação de algumas funções fisiológicas e, dentre elas, a reprodução. Nos últimos anos, as pesquisas têm se voltado para a procura de métodos confiáveis de produção de progênies de indivíduos de um determinado sexo. A técnica mais prática de se obter populações monosexo de tilápias é a manipulação do sexo fenotípico do peixe, pelo tratamento com esteróides sexuais. O presente trabalho teve por objetivo, avaliar o desempenho do crescimento gonadal da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos primeiros 30 dias de vida e fase final de engorda; alimentadas com rações adicionadas dos hormônios α -17 metil testosterona e β – estradiol, utilizados para indução da reversão sexual fenotípica, bem como realizar estudo morfológico das gônadas de populações de machos e fêmeas, não submetidos a tratamento hormonal. O experimento foi realizado na base de piscicultura da UFRPE e no Laboratório de Histologia do DMFA/UFRPE. Foram utilizadas 400 larvas e 30 adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). As larvas foram divididas em 03 grupos distintos: **Grupo T1:** 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de β – estradiol (20 mg/kg). **Grupo T2:** 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de 17 - α - metiltestosterona (60 mg/kg) **Grupo Controle (GC):** 200 animais alimentados com ração comercial livre de aditivos. Os animais de todos os grupos foram alimentados 5 vezes ao dia, durante 35 dias. Os adultos foram cultivados por 24 semanas em tanques rede recebendo ração adicionada de hormônios nos primeiros 30 dias e ração comercial livre de aditivos e específica para cada fase de cultivo nas fases seguintes. O material histológico foi, coletado, processado e analisado de acordo com os métodos usuais de rotina para histologia. Para análise estatística foram aplicados os testes de ANOVA de Tukey.

Palavras-chave: gônadas, hormônios, morfologia

ABSTRACT

The global aquaculture is growing faster than any other activity of the primary sector. The Brazil has extremely favorable conditions for fish farming, in addition to the great market potential, the country has favorable climate, good availability of areas, large crops of grain and enviable water potential. Tilapia are native to Africa and Asia Minor. About 70 species are taxonomically classified. The tilapia is widely distributed throughout Brazil and is created in various production systems. The development and intensification of farming are dependent on the successful control and manipulation of some physiological functions, among them, playing. In recent years, research has focused on the demand for reliable methods of producing progeny of individuals of one sex. The most practical technique of obtaining populations monosex tilapia is handling the phenotypic sex of the fish by treatment with sex steroids. This study aimed to evaluate the performance of gonadal growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the first 30 days and final fattening phase; fed with added hormones α -17 methyl testosterone and β -estradiol, used to induce phenotypic sex reversal as well as perform morphological study of the gonads of male and female populations, not undergoing hormonal treatment. The experiment was conducted on the basis of the fish UFRPE and Laboratory of Histology DMFA / UFRPE. A total of 400 adults and 30 larvae of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The larvae were divided into 03 distinct groups: Group T1: 100 animals fed with commercial feed with added β -estradiol (20 mg / kg). T2: 100 animals fed with commercial feed with added 17 - α - methyltestosterone (60 mg / kg) Control Group (CG): 200 animals fed with commercial diet free of additives. Mice from all groups were fed five times a day for 35 days. The adults were cultured for 24 weeks in tanks fed diet added network of hormones in the first 30 days and commercial diet free of additives and specific to each stage of cultivation in the later stages. The histological material was collected, processed and analyzed according to the usual methods for routine histology. Statistical analyzes were applied ANOVA Tukey.

Keywords: gonads, hormones, morphology

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1.TILÁPIA DO NILO	20
2.2.CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS	21
2.3.REVERSÃO SEXUAL DA TILÁPIA DO NILO	22
2.3.1. FEMINILIZAÇÃO.....	22
2.3.2. MASCULINILIZAÇÃO	22
2.4.CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E MORFOMÉTRICAS DA TILÁPIA DO NILO.....	23
2.5.CARACTERÍSTICAS DAS GÔNADAS	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
4. REFERÊNCIAS	28
ARTIGOS	35
PRIMEIRO ARTIGO	36
SEGUNDO ARTIGO	49
NORMA PUBLICAÇÃO REVISTA	65

LISTA DE FIGURAS

CORPO DA TESE

Figura 01 - Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)..... 21

PRIMEIRO ARTIGO

Figura 01 - Médias do comprimento dos animais do Grupo Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA/Tukey) 42

Figura 02 - Médias de peso dos animais do Grupo Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA/Tukey) 44

Figura 03 - Fotomicrografias da cavidade abdominal de tilápias do Nilo com 30 dias de desenvolvimento, cortadas transversalmente em posição cranial – caudal. **A** grupo Controle; **B** grupo T1 e **C** grupo T2. Setas = Gônadas indiferenciadas. Em **A** e **B** aumento de $\pm 200X$. Em **C** aumento de $\pm 100X$. Coloração: **A** Hematoxilina/ Eosina. **B** e **C** Tricrômico de Gomori 46

SEGUNDO ARTIGO

Figura 01 - Diferença de comprimento entre os tratamentos (ANOVA) 55

Figura 02 - Diferença de ganho de peso entre os tratamentos estudados. Gc/T1 $P < 0,05$ $P = 0,000113$; Gc/T2 $P < 0,05$ $P = 0,0006$; T1/T2 $P > 0,05$ $P = 0,45$ 56

Figura 03 - Fotomicrografias de Ovários de Tilápia do Nilo. Observar em **A** e **B** ovócitos I (cabeça de seta) e II (seta). Coloração: Hematoxilina/Eosina e Tricrômico de Gomori. Aumento: $\pm 100X$. Em **C** e **D** ovócitos maduros (seta). Coloração: Hematoxilina/Eosina e Tricrômico de Gomori. Aumento: **C** = $\pm 100X$ e **D** = $\pm 400X$... 58

Figura 04 - Fotomicrografias de testículos de Tilápia do Nilo. Observar em **A** vista panorâmica do testículo com composição morfológica característica e em fase de maturação. Aumento $\pm 40X$, Coloração: H.E. Em **B** testículo maduro, com túbulos seminíferos cheios de espermatozoides (seta). Aumento: $\pm 400X$, Coloração: H. E. Em **C** e **D** testículo de animal intersexo, observar estroma com resíduo ovariano (seta). Aumento: $\pm 100X$. Coloração: em **C** = H.E. e em **D** = Tricrômico de Gomori. 61

LISTA DE TABELAS

PRIMEIRO ARTIGO

Tabela 01 - Tamanho dos animais dos Grupos Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA) **42**

Tabela 02 - Peso dos animais dos Grupos Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA) **43**

Tabela 03 - Diferenças entre médias de peso e comprimento entre os grupos estudados (ANOVA/Tukey) **44**

SEGUNDO ARTIGO

Tabela 01 - Diferença de comprimento entre os grupos **55**

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial está crescendo mais rápido do que qualquer outra atividade do setor primário (TAKASHIMA e STRUSSMANN, 1997). O cultivo de animais aquáticos tem o potencial de suprir alimento de alta qualidade, particularmente de proteína animal (LOVELL, 1991; MUIR e NUGENT, 1995; HEGGBERGET, 1996; SHANG, 1996). Responsável por 7,5% de toda a produção global de alimentos, o pescado é atualmente a quinta maior fonte, perdendo apenas para arroz, produtos florestais, leite e trigo (BORGHETTI, 1996).

No Brasil a rápida expansão da aquicultura, vem sendo considerada como uma das melhores alternativas para diminuir a pressão da pesca sobre os estoques pesqueiros naturais, como também para reduzir os impactos negativos que a exploração pesqueira indiscriminada pode causar nos ecossistemas aquáticos (ROTTA e QUEIROZ, 2003). O Brasil reúne condições extremamente favoráveis à piscicultura, além do grande potencial de mercado, o país conta com clima favorável, boa disponibilidade de áreas, grandes safras de grãos (soja, milho, trigo, entre outros que geram matérias primas para rações animais) e invejável potencial hídrico (BOZANO, 2002; KUBITZA, 2003).

A piscicultura é reconhecida como uma importante atividade agroindustrial, capaz de gerar grande retorno financeiro para os produtores e para as indústrias processadoras de peixes, numa visão sistêmica de cadeias produtivas (PINHEIRO et al., 2006).

As tilápias são nativas do continente africano e da Ásia menor (GURGEL, 1998). Cerca de 70 espécies estão taxonomicamente classificadas (ICLARM, 1984). A primeira espécie que chegou ao Brasil foi a *Tilapia rendalli*, em 1952 (GURGEL, 1998). As tilápias são predominantemente de águas quentes, a temperatura da água pode variar de 20 a 30 °C, embora possam tolerar temperaturas de aproximadamente 12 °C

(SWIFT, 1993). Uma das tilápias mais procuradas no Brasil para cultivo é a chitralada, conhecida principalmente como tailandesa, linhagem desenvolvida no Japão e melhorada no Palácio Real de Chitral na Tailândia. Esta linhagem foi introduzida no Brasil em 1996 a partir de alevinos doados pelo Asian Institute of Technology (AIT) e, nos últimos anos, vem passando por processo de melhoramento genético em nosso país (ZIMMERMANN, 2000).

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), segundo Vannuccini (1999), tem sido etiquetada como o “novo pescado branco”. Esta espécie apresenta os requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, tais como carne branca de textura firme, sabor agradável e fácil filetagem, não tendo espinha em “Y” nem odor desagradável. Possui, além disso, as características que a colocam no pódio das principais espécies cultivadas comercialmente, as quais, de acordo com Kubitza e Kubitza (2000), são: a facilidade de reprodução e obtenção de alevinos, a possibilidade de manipulação hormonal do sexo, aceitação de diversos alimentos e capacidade de aproveitar alimentos naturais em viveiros; conversão alimentar entre 1 e 1,6; excelente crescimento em cultivo intensivo; grande rusticidade (manejo intenso e baixos níveis de oxigênio dissolvido) e resistência a doenças.

O avanço da tilapicultura no mundo inteiro está levando a uma intensificação dos cultivos, provocado principalmente pela diminuição da pesca marinha e maior procura pelo pescado devido às qualidades saudáveis de sua carne (SANTOS et al., 2007).

A tilápia está amplamente distribuída pelo território brasileiro e é criada nos mais diversos sistemas de produção. A intensificação da produção desta espécie no Brasil e o estabelecimento pelo Ministério da Agricultura de um programa de desenvolvimento da cadeia produtiva, principalmente para combater a importação de

pescado, têm demandado pesquisas por linhagens geneticamente melhoradas e adaptadas aos nossos ambientes (HILSDORF, 1995).

A tilápia é a segunda espécie mais cultivada mundialmente (JORY et al., 2000). Segundo Castillo Campo (2001), os Estados Unidos, em 2000, importaram 40.469 toneladas de tilápia, sendo 27.781 toneladas de peixe inteiro congelado, 5.185 de filé congelado e 7.501 de filé fresco. O mesmo autor menciona que o consumo de tilápia, produzida no país e a importada, foi de 90.720 toneladas em peso vivo, no final do ano 2000, enquanto em 1998 foi de 50.803 toneladas. Os principais exportadores de tilápia inteira e filés congelados são os países asiáticos, como a Tailândia, Taiwan e Indonésia; e de filés frescos, países latino-americanos como a Costa Rica, o Equador e Honduras (JORY et al., 2000). Em relação ao Brasil, em 1995, a produção de pescado advindo da aquicultura foi ao redor de 27.250 toneladas, o que colocava o Brasil em trigésimo terceiro entre os principais países que praticam a aquicultura (HILSDORF e PEREIRA, 1999). De acordo com Kubitza (2000), a produção anual de tilápia está entre 30 e 40 mil toneladas.

Tilápia é o nome genérico de um grupo de ciclídeos endêmicos da África (POPMA e MASSER, 1999). O grupo consiste em três gêneros importantes para a aquicultura – *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia* (SANTOS, 2004). Todas as espécies de tilápias constroem ninhos e os ovos fertilizados são incubados na boca. São facilmente identificadas por uma interrupção em sua linha lateral, que é uma característica da família Cichlidae, a qual pertencem. Elas são lateralmente comprimidas e com uma longa nadadeira dorsal, onde a parte anterior é profundamente espinhada, espinhas também são encontradas na pélvis e na nadadeira anal (RIBEIRO, 2001).

A piscicultura brasileira experimentou crescimento substancial na última década, atraindo as indústrias de ração com diversificação na qualidade e consequente alta nos

preços (ARAGÃO, 2002; EMATER, 2002). O fato tornou 50 a 70% da produção de peixe dependente de fatores como a qualidade e o custo, direcionando os nutricionistas ao estudo sobre viabilidade econômica da criação (EL-SAYED, 1999; FURUYA, 2001).

A inadequação nutricional causa baixa taxas de crescimento e conversão alimentar, além de tolerância à manipulação e transporte, aliados à alta deformidade anatômica e sinais clínicos de deficiências vitamínica e mineral e com maior incidência de doença e morte (LALL, 1988; KUBITZA e CYRINO, 1999).

O desenvolvimento e a intensificação da piscicultura são dependentes do sucesso no controle e manipulação de algumas funções fisiológicas e, dentre elas, a reprodução. Nos últimos anos, as pesquisas têm se voltado para a procura de métodos confiáveis de produção de progênes de indivíduos de um determinado sexo. Várias são as opções para se conseguir isto, incluindo métodos genéticos, não genéticos ou mesmo a combinação entre eles (PANDIAN e SHEELA, 1995).

A técnica mais prática de se obter populações monosexo de tilápias é a manipulação do sexo fenotípico do peixe, pelo tratamento com esteróides sexuais. O percentual de machos fenotípicos após tratamento hormonal de reversão sexual frequentemente fica acima de 95%. (LEONHARDT, 1997).

Pandian e Sheela (1995) relacionaram algumas vantagens e desvantagens do uso de hormônios na reversão sexual em peixes, dentre as vantagens está a maximização do crescimento que leva ao aumento do valor comercial dos peixes, em contrapartida como aspecto negativo os autores acreditam que os hormônios utilizados nas técnicas de reversão possam ser carcinogênicos e que estes hormônios podem afetar os consumidores, além desse aspecto ressaltam ainda que os hormônios administrados em cultivos abertos podem contaminar o ambiente.

Leonhardt (1997) sugere que o uso de hormônios não traria nenhum dano ao consumidor já que o peixe é criado durante muitos meses sem esteróides antes do abate.

A venda de tilápia tratada com esteróides não é aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA), seguindo essa recomendação as tilápias tratadas com esteróides em qualquer estágio do seu ciclo de vida é considerada ilegal para ser vendida nos Estados Unidos.

Embora a administração de esteróides naturais ou sintéticos em peixes em crescimento resulte em aumentos na taxa de crescimento e/ ou reversão sexual, são poucos os trabalhos que abordam os mecanismos pelos quais os esteróides influenciam a diferenciação sexual na tilápia, o conhecimento das bases fisiológicas do processo pode auxiliar produtores nas decisões sobre o uso de hormônios na reversão sexual em tilápias (HINES e WATTS, 1997).

Diante das perspectivas promissoras da piscicultura, aliada à escassez de informações sobre a ação dos hormônios utilizados no processo de reversão sexual na morfofisiologia da reprodução de peixes de manejo comercial, evidenciou-se a necessidade de se fazer pesquisas relacionadas com a eficiência de administração desses hormônios e sua influência na alteração morfológica das gônadas e composição corporal dos indivíduos no processo reprodutivo como um todo, visto que a eficiência de um manejo se dá por conta, principalmente do sucesso reprodutivo da espécie.

Para tanto o presente trabalho teve por objetivo, avaliar o desempenho do crescimento gonadal da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos primeiros 30 dias de vida e fase final de engorda; alimentadas com rações adicionadas dos hormônios α -17 metil testosterona e β – estradiol, utilizados para indução da reversão sexual fenotípica, bem como realizar estudo morfológico das gônadas de populações de machos e fêmeas, não submetidos a tratamento hormonal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TILÁPIA DO NILO

Os teleósteos incluem mais de vinte mil espécies, constituindo, assim, o maior e provavelmente mais diversificado e antigo grupo de vertebrados. O habitat destes vertebrados é bastante variado sugerindo que ao longo de sua história evolutiva os peixes desenvolveram um eficiente processo adaptativo ao meio ambiente. Desta forma, os mesmos foram capazes de colonizar e de se reproduzir numa variedade grande de ambientes (BILLARD, 1986).

A tilápia nilótica (*O. niloticus*) (Fig. 01) é um peixe teleósteo pertencente à ordem Perciformes, família Cichlidae e à subfamília Tilapiinae (TREWAVAS, 1983). Seu cultivo, que remonta mais de 3.000 anos no Egito, está atualmente espalhado por quase todos os países do mundo. A produção total mundial de tilápia só é menor que a de carpas e de salmonídeos, tendo aumentado drasticamente, chegando mesmo a dobrar entre 1986 e 1992 (ENGLE, 1997).

Constitui uma das espécies de peixe mais produzidas no mundo devido às boas características organolépticas de sua carne (TORRANS, 1998; FAO, 2003), o que faz da tilápia uma espécie promissora para a aquicultura do século XXI (FITZSIMMONS, 2000).

A área de distribuição geográfica natural da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é o Leste Africano (bacia do rio Nilo), o Congo e o Oeste Africano (bacias dos rios Níger e Senegal), sendo, a partir daí, disseminada pelo homem para Israel, Sudoeste Asiático (Indonésia, Filipinas, Formosa), para o EUA (Alabama e Flórida) e, ainda, para a América do Sul (Brasil, México e Panamá) (BALARIN e HATTON, 1979).

Segundo Lund e Figueira (1989), a tilápia do Nilo é uma espécie que apresenta escamas grandes, pouco brilhantes, nítidas listras verticais na nadadeira caudal e ainda manchas esbranquiçadas no ventre e coloração prateada no dorso. Ela é típica de ambiente tropical, adaptando-se melhor em clima onde a temperatura varie entre 18 °C e 28 °C.

As tilápias são espécies oportunistas, que apresentam uma grande capacidade de adaptação aos ambientes lênticos. Além disso, suportam grandes variações de temperatura e toleram baixos teores de oxigênio dissolvido. A alimentação pode variar dependendo da espécie: podem ser onívoras, herbívoras ou fitoplanctófagas. Algumas espécies se reproduzem a partir dos seis meses de idade, sendo que a desova pode ocorrer mais de quatro vezes por ano. Como protegem a prole, o índice de sobrevivência é bastante elevado (SOUSA, 2010).

O Brasil oferece condições altamente favoráveis para seu cultivo, motivo pelo qual a tilápia nilótica foi recentemente indicada pelo Ministério da Agricultura como o principal peixe para abastecimento da cadeia produtiva do pescado de água doce, tendo sido alocados financiamentos para pequenos produtores que se interessam em cultivar essa espécie (MONTROYA, 2008).



Figura 01. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2. CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS

Na natureza, a tilápia do Nilo chega à sua primeira maturação sexual a partir de 20 cm. Já em cativeiro pode atingi-la com quatro a cinco meses, com 10 a 17 cm de comprimento. Uma fêmea pode por de 1.500 a 2.000 ovos por vez, desovando pelo menos três vezes ao ano (LEONHARDT, 1997).

Em locais de clima quente, reproduzem o ano todo e, se a temperatura ultrapassar 24°C, o intervalo entre duas desovas consecutivas pode ser de 28 dias. Uma característica da reprodução desta espécie é o fato de a fêmea incubar os ovos na boca, onde permanecem por sete a oito dias, só saindo após a absorção do saco vitelino, o que dá melhor proteção à prole. Este fato, aliado à precocidade sexual e a característica de se reproduzirem durante todo o ano em locais de temperatura alta, garante uma grande disponibilidade de alevinos desta espécie para o cultivo (LUND e FIGUEIRA, 1989).

2.3. REVERSÃO SEXUAL DA TILÁPIA DO NILO

A reversão sexual em peixes deve começar antes que o tecido gonadal das fêmeas e machos genéticos tenham se diferenciado em ovários e testículos (YAMAMOTO, 1969; NAKAMURA et al., 1998).

Green e Teichert-Coddington (1993) sugerem que larvas de tilápias com comprimento de 9 a 11 mm são adequadas para a reversão por ainda serem sexualmente indiferenciadas. Segundo esses autores, a administração de andrógenos nesses peixes por três ou quatro semanas resulta em uma população com 97% a 100% de animais revertidos fenotipicamente.

Ribeiro (1996) afirma que após o período de reversão poucas larvas têm menos do que 14 mm de comprimento total e sua média de peso deve estar entre 0,1 e 0,3 g. O hormônio na dieta deve ser suspenso quando as gônadas estiverem desenvolvidas ao ponto de manter os níveis de hormônios endógenos numa faixa de normalidade.

O momento exato em que o tratamento pode ser interrompido ainda não está definido (NEUMAN, 2004).

O 17- α -metiltestosterona e o 17- β -estradiol são os hormônios preferidos para a indução da masculinização e feminização, respectivamente. O tratamento na dieta e os banhos de imersão são os métodos mais aceitos na administração dos esteróides. A reversão sexual em ciclídeos e ciprinídeos pode resultar em crescimento de duas a três vezes mais rápido, quando o tratamento é realizado com doses consideradas ótimas (LEONHARDT, 1997).

2.3.1 FEMINILIZAÇÃO

A expressão do sexo depende de dois eventos: da determinação sexual e da diferenciação sexual. A determinação sexual é responsável pelo sexo genético (ou genotípico), enquanto que a diferenciação sexual é responsável pelo desenvolvimento das gônadas (sexo gonadal ou fenotípico). A interação desses dois eventos resulta em dois fenótipos: macho e fêmea, seja, morfológico, comportamental, ou funcional (PIFERRER, 2001).

Contudo, Harrington (1974) relata que a diversidade entre 20.000 espécies de teleósteos e o conhecimento limitado sobre sua sexualidade não permite generalização dos mecanismos de determinação e diferenciação de sexo. Segundo Harper (1990), a diferenciação sexual envolve uma série de sequências de processos ordenados que podem ser descritos como: cromossomo sexual agindo nas gônadas sexuais e refletirá no fenótipo sexual.

Segundo Yamamoto (1969) e Yamazaki (1983) o sexo fisiológico dos peixes é determinado na ontogênese pelo processo bioquímico realizado sob controle genético, e vai depender do tipo primário de gônada, isto é, do sexo gonadal.

2.3.2 MASCULINIZAÇÃO

As doses efetivas de metil-testosterona na ração para esta transformação variam, como por exemplo, na truta arco-íris doses de 0,5 a 1,0 mg/kg de ração são suficientes para provocar a inversão, mas em tilápias é necessário utilizar 30 a 60 mg/kg. Doses altas de andrógenos podem levar a uma feminilização paradoxal, pois reagem com receptores de esteróides e também porque pode haver uma grande conversão de andrógenos a estrógenos por causa de uma maior ativação da aromatase (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002). A imersão de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de 14 dias por 4 horas em metil-testosterona, metildihidrotestosterona ou etinil-testosterona só causa masculinização com doses acima de 600 µg/L no caso de metildihidrotestosterona ou 1800 µg/L para os outros andrógenos (WASSERMANN e AFONSO, 2003).

Para Popma e Lovshin (1996), o cultivo comercial em larga escala de tilápia é quase exclusivamente com monosexos machos, ou seja, mais de 95% de machos. O

cultivo de machos previne ou reduz a desova, e tem como vantagem o maior crescimento dos machos quando comparado às fêmeas.

2.4. CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS E MORFOLÓGICAS DA TILÁPIA DO NILO

O estudo da morfologia das formas iniciais do ciclo de vida dos peixes, combinado com a discriminação morfométrica do crescimento, aumenta a probabilidade de se observar transformações correlacionadas que levam à diferenças morfológicas em jovens e adultos.

Ehlinger (1991) afirma que o desafio funcional é, na maioria das vezes, a discriminação estatística de grupos de seres vivos, para poder descrever variações morfológicas dentro de populações, caracterizando estas populações em termos biológicos e, conseqüentemente em termos produtivos.

O tamanho do corpo fixado em relação a idade é um traço comum a ser observado na performance dos peixes. No decorrer do período Larval, muitos peixes teleósteos sofrem mudanças dramáticas na forma do corpo, pois muitos sistemas corporais estão incompletos até o momento da eclosão (digestório e respiratório, principalmente), e as mudanças que ocorrem durante o desenvolvimento afetam diretamente o crescimento e a sobrevivência dos espécimes jovens (BLAXTER, 1969; GISBERT et al., 2000). A forma morfológica definitiva é assumida após um curto período de vida.

Segundo Ricker (1979), o padrão de crescimento em peixes muda rapidamente no início do desenvolvimento e deve ser mensurado em curtos intervalos de tempo, com a descrição numérica do crescimento.

Apesar das tilápias estarem entre os peixes de águas tropicais mais cultivados do mundo, pouco se sabe sobre variações entre linhagens quanto às taxas de fecundidade, crescimento, sobrevivência e efetividade da reversão sexual.

2.5. CARACTERÍSTICAS DAS GÔNADAS

Os ovários dos teleósteos são estruturas normalmente alongadas e que dispõem aos pares na porção dorsal da cavidade abdominal (SANTOS, 1991).

Geralmente os testículos estão localizados na cavidade celomática, são pares podendo estar parcialmente fundidos entre si, apresentando tamanho similar entre o direito e o esquerdo e são frequentemente alongados (LE GAC e LOIR, 1999).

Para Bazzoli et al. (1990) e Fragoso et al. (2000), a análise histológica das gônadas é essencial para a verificação do sexo e estado maturacional das espécies íctias.

As fêmeas desta espécie apresentam ovários em maturação e maduros, tal como é visto na maioria dos teleósteos (NAGAHAMA, 1983), constituídos por ovogônias e ovócitos envoltos por células foliculares, suportadas por tecido conjuntivo fibroso (CARVALHO e FORESTI, 1996). A desova é do tipo parcelada assincrônica (VAZZOLER, 1996), e dependendo do grau de maturação sexual do peixe, os ovários podem exibir ovócitos em vários graus de desenvolvimento, podendo ser classificados em ovogônias e ovócito I, ovócito II, ovócito maduro e ovócito em degeneração (BABIKER e IBRAHIM, 1979; CARVALHO e FORESTI, 1996; MSISKA, 2002).

Nos machos, a organização testicular das tilápias do Nilo é semelhante a quase todos os peixes teleósteos, sendo basicamente constituídos por numerosos lóbulos seminíferos (BABIKER e IBRAHIM, 1979). Cada lóbulo seminífero é formado por cistos que contém dois tipos de linhagem celular: germinativas e somáticas distintas, na periferia dos lóbulos (NAGAHAMA, 1983). Em geral todas as células da linhagem germinativa de um mesmo cisto estão na mesma fase de desenvolvimento durante o processo de maturação do testículo (NAGAHAMA, 1983; CARVALHO e FORESTI, 1996; PALLER e GUERRERO III, 2001).

O processo de desenvolvimento maturacional dos testículos pode ser dividido em fases assim como nos ovários, com diferenças fisiológicas próprias a cada sexo, sendo assim os testículos apresentam normalmente 3 fases distintas: a) Fase proliferativa (espermatogonial), b) Fase meiótica (espermatocitária) e c) Fase de diferenciação (espermio gênica) (RUSSEL et al. 1990).

O peso das gônadas das tilápias, raramente excede 6% do peso total do corpo, estando muito próximo do limite inferior do peso gonadal para peixes teleósteos (ILES, 1973 *apud* LORENZEN, 2000), onde a fecundidade é proporcional ao peso do corpo (JALABERT e ZOHAR, 1982 *apud* LORENZEN, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na base de piscicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco e o processamento do material histológico no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA/UFRPE.

Foram utilizadas 400 larvas e 30 adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Após a eclosão nos viveiros as larvas foram estocadas em aquários. As larvas foram divididas em 03 grupos distintos, a saber:

Grupo T1: 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de β – estradiol (20 mg/kg).

Grupo T2: 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de 17 - α - metiltestosterona (60 mg/kg)

Grupo Controle (GC): 200 animais alimentados com ração comercial livre de aditivos.

Os animais de todos os grupos foram alimentados 5 vezes ao dia, durante 35 dias.

Os adultos foram cultivados por 24 semanas em tanques rede recebendo ração adicionada de hormônios nos primeiros 30 dias e ração comercial livre de aditivos e específica para cada fase de cultivo nas fases seguintes.

Para preparo da ração dos grupos T1 e T2, foram utilizadas soluções de álcool – hormônio segundo Popma e Green (1990).

Para a obtenção do material histológico das larvas foram realizadas 5 coletas, com intervalo de 5 dias entre elas (15, 20, 25, 30 e 35 dias do ciclo de vida dos animais), Foram coletados 10 animais de cada grupo (T1, T2 e GC) por coleta. Para tanto os animais foram eutanasiados por apóxia, aferido seu comprimento total (CT) com paquímetro digital Caliper (150mm), pesados em balança digital de precisão e fixados em formol neutro tamponado a 10%, no momento da fixação foram retiradas a nadadeira caudal e cabeça a partir da base do opérculo.

Os adultos foram eutanasiados por apóxia, posteriormente foram aferidos os comprimentos, CT (comprimento total), CP (comprimento padrão), utilizando-se

paquímetro digital Caliper (150mm), bem como o peso total do animal (PT) e o peso eviscerado (PE), utilizando balança digital de precisão. Logo após, os animais foram identificados macroscopicamente quanto ao sexo e estado maturacional. Em seguida as gônadas foram retiradas, medidas, pesadas e fixadas em formol neutro tamponado a 10%.

No laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / DMFA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, as amostras foram clivadas e recolocadas na solução fixadora, por um período de 48 horas. Após esse tempo as mesmas foram transferidas para o álcool a 70% (JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983)

Os fragmentos das gônadas foram desidratados em etanol em ordem crescente de 80% a 100%, em seguida foram diafanizados pelo xilol, impregnados em parafina em estufa regulada à temperatura de 58°C e incluídos em parafina (BEÇAK e PAULETE, 1976; BEHMER et al., 1976; JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983).

Os blocos foram cortados em micrótomo (Leica), ajustado para 5 micrômetros (μm). Em seguida os cortes obtidos foram corados pelo método de Hematoxilina/Eosina-Floxina e Tricrômico de Gomori. A análise histológica foi realizada utilizando um Microscópio Biológico Trinocular NIKON 50i acoplado a um sistema de captura de imagem Microscópica. Para a análise morfométrica foi utilizado o programa imagelab versão 2000.

Para análise estatística foram aplicados os testes de ANOVA para evidenciar diferenças entre os tratamentos realizados e de Tukey para mostrar as diferenças entre os grupos estudados (MENDES, 1999).

4. REFERÊNCIAS

BABIKER, M. M.; IBRAHIM, H. Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): gonadal maturation and fecundity. *J. Fish Biol.*, Oxford – England, v. 14, p. 437 – 448, 1979.

BALARIN, J. D.; HATTON, J. P. **Tilapia: a guide to their biology and culture in Africa**. Stirling: University of Stirling, 1979. 174p.

BAZZOLI, N.; RIZZO, E. Comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in the tem Brazilian teleost fish specie. **Eur. Arch. Biolo.**, v.101, n. 4, p. 399-410. 1990.

BILLARD, R; K. BIENIARZ; W. POPEK; P. EPLER & A. SAAD. 1989. Observations on a possible pheromonal stimulation of milt production in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture** 77 (4):387-392.

BLAXTER, J. H. S. 1969. Development: eggs and larvae. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J. (Editors). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v. III, p. 178-252.

BOZANO, G.L.N. Viabilidade técnica da criação de peixes em tanques rede. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 12, 2002, Goiânia. **Anais...** Goiânia: ABRAq. p. 107- 111p. 2002.

CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Reversão de sexo em tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, TREWAVAS, 1983, induzida por 17-alfa-metiltestosterona: proporção de sexo e histologia de gônadas. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 56, n. 2, p. 249-262, 1996

CASTILLO CAMPO, L.F. Situación del comercio de tilapia em el año 2000. **Panorama Acuicola**, v.6, n.3, p.24-27, 2001.

CYRINO, J. E. P. Regulação nutricional do crescimento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, 1, Campos do Jordão, SP, 1995. *Anais...* Campos do Jordão, SP, 1995. p.69-90. Furuya, W.M. (2001) Alimentos ambientalmente corretos para piscicultura. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, Piracicaba. *Anais...* Ribeirão Preto: SBZ. 515-527. 2001.

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

EL-SAYED, A.M. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Aquaculture*, Amsterdam, 33: 621-626. 2002.

EMATER – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural. Piscicultura – Paraná. Disponível em <<http://www.emater.gov.pr.br>>. Acesso em jun. 2002.

ENGLE, C.R. Economics of tilapia aquaculture. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Eds.). **Tilapia aquaculture in the Americas**. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, v.1, p.229-243. 1997.

FAO. Animal Feed Resources Information System. 2003.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: most important aquaculture species of the 21st century. In: ISTA - INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., Rio de Janeiro. *Anais...* p.3-8. 2000.

FRAGOSO, E. N.; SÁ, M. F. P.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. Reprodução de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) do córrego da lagoa, São Carlos – SP. II. Estrutura dos testículos e escala de maturação. Congresso Brasileiro de Zoologia, 3, Itajaí. **Resumos...** 2000.

GISBERT, E.; WILLIOT, P.; CASTELLÓ-ORVAY, F. Influence of egg size on growth and survival at early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. **Aquaculture**, 183:83-94. 2000.

GURGEL, J. J. S. Potencialidade do cultivo da tilápia no Brasil. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, Fortaleza. **Anais...** Sociedade Nordestina de Produção Animal, v. 1, p. 345-352. 1998.

HARPER, D.M., MAVUTI, K.M. & MUCHIRI, S.M. Ecology and management of Lake Naivasha, Kenya in relation to climatic changes, alien species introduction and agricultural development. *Environmental Conservation* 17, 329–336. 1990.

HEGGBERGET, T. G. Role of aquaculture in world fisheries. In: WORLD FISHERIES CONGRESS, Theme 6, The Role of Aquaculture in World Fisheries – New Delhi **Proceedings ...** New Delhi: Oxford & IBH, p. 24-42. 1996.

HILSDORF, A.W.S. Genética e cultivo de tilápias-vermelhas: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, p.73-84, 1995.

HILSDORF, A.; PEREIRA, J.L. Perfil do Consumo de Pescado em Restaurantes Industriais da Região do Vale do Paraíba. **Panorama da Aqüicultura**.v.9,n.53.p.31-35.1999.

HINES, G. A. & WATTS, S. A. Understanding hormonal sex reversal in tilapia. In: WORLD AQUACULTURE, 97, Seattle, Washington, U.S.A., *Abstracts...* Louisiana State University, Baton Rouge, LA, U.S.A., p.490. 1997.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. **Panorama Acuicola**, v.5, n.5, p.50-53, 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas Básicas de Citologia e Histologia**. Livraria e editora Santos, 123p. São Paulo. 1983.

KUBITZA, L.M.; KUBITZA, F. Principais parasitoses e doenças em tilápia. *Panor. Aquic.*, v.10, p.39-53, 2000.

KUBITZA, F. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. Jundiaí: Kubitza. 229p. 2003.

LE GAC, F.; LOIR, M. Male reproductive system fish. In: KROBIL, E. NEILL, J. D. (ed). **Encyclopedia of Reproduction**. San Diego: Academic Press. 3. 20-30. 1999.

LEONHARDT, J. H. *Efeitos da reversão sexual em tilápia do Nilo Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1757)*. Tese (Doutorado) – Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

LORENZEN, K. Population dynamics and management. In: BEVERIDGE, M.C.M.; MCANDREW, B.J. **Tilapias: Biology and exploitation**. Kluwer Academic Pub., p. 163-225. 2000.

LOVELL, R. T. Foods from aquaculture. **Food Technology**, n.9. p. 87-92. 1991.

LUND, V. X. & FIGUEIRA, M. L. O. A. *Criação de tilápias*. São Paulo: Livraria Nobel, 63p. 1999.

MENDES, P. P. Estatística Aplicada à Aqüicultura. Ed. Bagaço. 265p. 1999.

MUIR, J. F., NUGENT, C. G. Aquaculture production trends: perspectives for food security, in safeguarding future fish supplies: key policy issues and measures. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE SUSTAINABLE CONTRIBUTION OF FISHERIES TO FOOD SECURITY, **Anais...** 1995.

NAKAMURA, M.; KOBAYASHI, T.; CHANG, X. T.; NAGAHAMA, Y. Gonadal sexdifferentiation in teleost fish. *The Journal of Experimental Zoology*, New York, v. 281, p. 362 – 372, 1998.

NEUMANN, E. *Características do desenvolvimento inicial de duas linhagens de tilápia Oreochromis niloticus e uma híbrida Oreochromis sp.* **Dissertação** (Mestrado) – Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 63 p., 2004.

PALLER, V. G. V.; GUERRERO III, R. D. Histological effects of 17 α -methyltestosterone on gonadal sex differentiation of *Oreochromis niloticus* L. fry. *Asia Life Sciences*, Philippines, v. 10, n. 1, p. 55 – 68, 2001.

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

PIFERRER, F.; ZANUY, S.; CARRILLO, M.; SOLAR I.I; DEVLIN, R. H.; DONALDSON, E. M. Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes chromosomally female salmon to develop as normal, functional males. **Journal of Experimental Zoology**, Vancouver. n. 270, p. 255–262. 1994.

PINHEIRO, S., NARS, N. Y, LUZ, D. Agricultura Ecológica e a Máfia dos Agrotóxicos no Brasil. Rio de Janeiro: **Edição dos Autores**, 1998. Em: AZEVEDO, A. A. Análise dos Impactos Ambientais da Atividade Agropecuária no Cerrado e suas inter-relações com os Recursos Hídricos na Região do Pantanal. 2006.

POPMA, T.J., GREEN, B.W. Reversão sexual de tilápias em tanques de terra. In: *Manual de produção em aquacultura*. Flórida - EUA: Universitu Auburn. 52p. 1990

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia**. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Research and Development, Auburn: Auburn University, Alabama. Series n. 41, 23p., 1996.

POPMA, T.; MASSER, M. Tilapia: Life History and Biology. **Southern Regional Aquaculture Center**, n. 283, Mar. 1999.

RIBEIRO, R. P. Espécies exóticas. In: MOREIRA, H. L. M. [et al.]. **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ed. ULBRA. p. 91- 121. 2001.

RICKER, W. E. Growth rates and models. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; BRETT, J.R. (Eds.) **Fish physiology, bioenergetics and growth**. New York: Academic Press. v.3, 786p. 1979.

ROTTA, M. A. e J. F. QUEIROZ. Boas práticas de manejo (BPMs) para produção de peixes em tanques-redes. Corumbá: **Embrapa Pantanal**. 27 p. 2003.

RUSSEL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SHINHA HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. Histological and histopatological of the testis. Bolesta: **Cache river press**. 1:4-20, 1990.

SANTOS, S. L. **Histologia de Peixes**. São Paulo: Ed. Funep. 80p. 1991.

SANTOS, V. B. dos. **Crescimento morfométrico e alométrico de linhagens de Tilápia** (*Oreochromis niloticus*). 86 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SANTOS, L. D. et al. Ácido linoléico conjugado (CLA) em dietas para tilápia do Nilo: Desempenho produtivo, composição química e perfil de ácidos graxos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.5, p. 1481-1488p. 2007.

SHANG, Y. C. The role of aquaculture in world fisheries, in “The Role of Aquaculture in World Fisheries – Proceedings of the World Fisheries Congress, Theme 6” (ed. By T. G. Heggberget) Oxford & IBH, New Delhi, p. 24-42. 1996.

SWIFT, D. R. **Aquaculture training manual**. 2ed. USA. Blackwel scientific publications. Inc: Cambrtidge. 1993.

TAKASHIMA, F., STRUSSMANN, C. A. Aquaculture in Japan teced trends. **Proc. Second Int. seminar on Fisheries Sci. in Tropical Área**. p. 87-91. 1997.

TEICHERT-CODDINGTON, AND T.R. HANSON. Development of semi-intensive aquaculture technologies in Honduras: Summary of freshwater aquacultural research conducted from 1983 to 1992. International Center for Aquaculture and Aquatic

Environments, Research and Development Series No. 39, Auburn University, Alabama, 48 pp. 1994.

TORRANS L. Blue tilapia culture in arkansas. Pine Bluff: Cooperative Extension Service Program Publication University of Arkansas, 1998.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.** Maringá: EDUEM. 196p. 1996.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia; en el mundo Occidental. **Panorama Acuícola**, v.4, n.3, p.22-25, 1999.

YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (Editors). **Fish Physiology**. V. III, New York: Academic Press, p. 117 – 175. Green, B.W., D.R. 1969.

YAMAZAKI, F. Sex control and manipulation in fish. *Aquacult.*, 33:329-354. 1983.

WASSERMANN, G. J.; AFONSO, L. O. B. Validation of the aceto-carmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Ciência Rural**, v.32, p.113-139, 2003.

ZIMMERMAN, S.; LITTLE, D. C. Regional and national impacts of the introduction of the Chitralada strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to Brazil. In: WAS: Realizing the potential: responsible aquaculture for a secure future, Salvador, 2003.

ARTIGOS

PRIMEIRO ARTIGO:

ANÁLISE BIOMÉTRICA E HISTOLÓGICA DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A ALIMENTAÇÃO ADICIONADA DOS HORMÔNIOS 17 - α METILTESTOSTERONA E β - ESTRADIOL DURANTE OS 30 PRIMEIROS DIAS DE DESENVOLVIMENTO

Maria Goretti Soares e Joaquim Evêncio Neto

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo, avaliar o crescimento biométrico e analisar a histologia das gônadas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a alimentação adicionada dos hormônios 17 - α metiltestosterona e β - estradiol durante os 30 Primeiros dias de desenvolvimento. Foram utilizadas 400 larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Após a eclosão nos viveiros as larvas foram estocadas por 35 dias em aquários sob os mesmos parâmetros da água e com temperatura variando entre 25°C e 29°C. As larvas foram divididas em 03 grupos distintos **Grupo T1:** 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de β - estradiol (20 mg/kg), **Grupo T2:** 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de 17 - α - metiltestosterona (60 mg/kg) e **Grupo Controle (GC):** 200 animais alimentados com ração comercial livre de aditivos. Foram coletados 10 animais de cada grupo aferidos seu comprimento total (CT) e pesos. Os animais foram processados de acordo com os métodos usuais para microscopia de luz. Para verificação estatística foram utilizados os testes de ANOVA e Tukey. Os resultados da biometria mostraram que não houve diferença de comprimento entre os grupos porém em relação ao ganho de peso entre os grupos T1 e T2 em relação ao grupo controle houve diferença, histologicamente não houve diferenciação das gônadas. Concluimos que populações de tilápias revertidas sexualmente apresentam maior crescimento e ganho de peso comparados a grupos não revertidos e verificamos ainda que não é possível ser realizada sexagem das gônadas da tilápia do Nilo até os 35 dias de desenvolvimento, devido a indiferenciação morfológica tanto anatômica quanto histológica dessas estruturas até essa idade de crescimento.

Palavras-chave: desenvolvimento, morfologia, sexagem

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the growth and analyze biometric histology of the gonads of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted the power of hormones added 17 - methyltestosterone α and β - estradiol during the 30 first days of development. A total of 400 larvae of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). After hatching the larvae in the ponds were stocked in aquaria for 35 days under the same parameters and the water temperature between 25 ° C and 29 ° C. The larvae were divided into 03 distinct groups Group T1: 100 animals fed with commercial feed with added β - estradiol (20 mg / kg), group T2: 100 animals fed with commercial feed with added 17 - α - methyltestosterone (60 mg / kg) and Control Group (CG): 200 animals fed a commercial diet free of additives. We collected 10 animals in each group measured their total length (TL) and weights. The animals were processed according to usual methods for light microscopy. For statistical verification tests were used ANOVA and Tukey. The results of the biometry showed no difference in length between the groups but in relation to weight gain between groups T1 and T2 in the control group was no difference histologically there was no differentiation of gonads. We conclude that populations are more sexually reversed tilapia growth and weight gain compared to groups not yet reversed and found that it can not be held sexing gonads of tilapia up to 35 days of development, due to morphological differentiation and anatomic and histologic these structures to age growth.

Keywords: development, morphology, sexing

Introdução

Em várias regiões do planeta, inclusive em águas brasileiras, muitas espécies de importância comercial vêm apresentando produções estagnadas e até mesmo em declínio devido à sobrepesca, ao aumento de taxas de mortalidade e à diminuição dos índices de sobrevivência, principalmente de formas juvenis. Estes dois últimos fatores relacionam-se com condições ambientais negativas que gradativamente têm alterado muitos ecossistemas aquáticos (Ipeasc, 1996).

Contudo, há um crescimento da população mundial e, conseqüentemente, da demanda por pescado e seus subprodutos. Desta forma, o desenvolvimento de pesquisa no setor de piscicultura é de suma importância, já que caberá a aquicultura o papel cada vez mais preponderante de atender as necessidades da sociedade contemporânea, não permitindo uma alteração drástica nos ecossistemas naturais remanescentes (Lemos, 2004).

A piscicultura é reconhecida como uma importante atividade agroindustrial, capaz de gerar grande retorno financeiro para os produtores e para as indústrias processadoras de peixes, numa visão sistêmica de cadeias produtivas (Pinheiro et al., 2006).

A tilápia-do-Nilo é o peixe mais criado no Brasil com uma produção estimada de 238.662 toneladas em 2005 (Sinau, 2006) e com perspectivas de aumento da produção para suprir a demanda brasileira e de exportações.

A tilápia do Nilo é uma espécie gonocorista indiferenciada. Neste caso, as gônadas desenvolvem-se, primeiramente, com estrutura semelhante a ovários; depois, cerca da metade dos indivíduos da população desenvolvem-se em machos e a outra metade em fêmeas, fator que possibilita a completa e funcional reversão de sexo nesta espécie (Yamazaki, 1983).

A maioria das pisciculturas utiliza populações monosexo – macho de tilápia para a produção comercial. A técnica mais utilizada para obtenção de populações de machos e fêmeas é a reversão sexual pelo método direto, que consiste na utilização de hormônios na dieta dos animais (Guerrero, 1975; Phelps et al., 1995). Portanto, a forma de alimentação da tilápia na fase larval é bastante importante, pois é durante esse período que se faz a reversão sexual adicionando hormônios masculinizantes e feminilizantes à ração, a qual é fornecida aos animais (Phelps et al., 1995; Carrasco et al., 1999; Meurer et al., 2003).

A fase de diferenciação do sexo na reversão varia conforme as condições experimentais de temperatura, densidade de estocagem, quantidade de ração oferecida, tipo e dosagem do hormônio empregado, via de administração e condições fisiológicas particulares de cada espécie (Carvalho e Foresti, 1996).

Alguns trabalhos de reversão sexual mostram experimentos em que o fornecimento de ração, com a presença de hormônio masculinizante, dura de 20 a 45 dias, já o feminilizante um pouco menos, 20 a 35 dias (Mainardes-Pinto et al., 2000; Toyama et al., 2000; Makino, 2005). Todavia, as análises histológicas das gônadas são realizadas posteriormente a esse período, quando os animais já atingiram um tamanho considerável.

O processo da reversão sexual normalmente é praticado, quando um dos sexos possui marcada superioridade na taxa de crescimento em relação ao outro, além de ser vantajoso no controle da reprodução, na contenção de gastos energéticos na reprodução, uniformidade de tamanho e na redução dos efeitos da maturação sexual sobre a aparência e a qualidade da carne (Beardmore et al., 2001).

O presente trabalho teve por objetivo, avaliar o crescimento biométrico e analisar a histologia das gônadas da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas

a alimentação adicionada dos hormônios 17 - α metiltestosterona e β – estradiol durante os 30 Primeiros dias de desenvolvimento.

Material e Métodos

Foram utilizadas 400 larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Após a eclosão nos viveiros as larvas foram estocadas por 35 dias em aquários sob os mesmos parâmetros da água e com temperatura variando entre 25°C e 29°C. As larvas foram divididas em 03 grupos distintos, a saber:

Grupo T1: 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de β – estradiol (20 mg/kg).

Grupo T2: 100 animais alimentados com ração comercial adicionada de 17 - α - metiltestosterona (60 mg/kg)

Grupo Controle (GC): 200 animais alimentados com ração comercial livre de aditivos.

Os animais de todos os grupos foram alimentados 5 vezes ao dia, durante 30 dias.

Para preparo da ração dos grupos T1 e T2, foram utilizadas soluções de álcool – hormônio segundo Popma e Green (1990). Onde os hormônios foram diluídos em solução de álcool absoluto e misturados a ração. Após a secagem em temperatura ambiente a ração foi acondicionada em recipientes apropriados para então ser administrada aos animais.

Para a obtenção do material histológico das larvas foram realizadas 5 coletas, com intervalo de 5 dias entre elas (15, 20, 25, 30 e 35 dias do ciclo de vida dos animais). Foram coletados 10 animais de cada grupo (T1, T2 e GC) por coleta. Para tanto os animais foram eutanasiados por apóxia, aferido seu comprimento total (CT) com paquímetro digital Caliper (150 mm), pesados em balança digital de precisão e fixados em formol neutro tamponado a 10%, no momento da fixação foram retiradas a nadadeira caudal e cabeça a partir da base do opérculo.

Os fragmentos das gônadas foram desidratados em etanol em ordem crescente de 80% a 100%, em seguida foram diafanizados pelo xilol, impregnados em parafina em estufa regulada à temperatura de 58 °C e incluídos em parafina (Beçak & Paulete, 1976; Behmer et al., 1976; Junqueira e Junqueira, 1983).

Os blocos foram cortados em micrótomo (Leica), ajustado para 5 micrômetros (μm), de forma seriada da região cranial para a caudal do animal. Em seguida os cortes obtidos foram corados pelo método de Hematoxilina/Eosina-Floxina e Tricrômico de Gomori. A análise histológica foi realizada utilizando um microscópio biológico trinocular NIKON 50i acoplado a um sistema de captura de imagem microscópica.

Para análise estatística foram aplicados os testes de ANOVA para evidenciar diferenças entre os tratamentos realizados e de Tukey para mostrar as diferenças entre os grupos estudados (Mendes, 1999).

Resultados e Discussão

A média de comprimento biométrico dos animais durante os primeiros 35 dias de vida foi de 14,01 mm para o grupo controle (GC), 15,73 mm para o grupo T1 (β – estradiol) e 15,77 mm para o grupo T2 (17 - α - metiltestosterona), mostrando que na fase inicial do desenvolvimento o crescimento do grupo controle foi um pouco menor que dos demais grupos, apresentando uma variação de $P=0,0002$ de significância em relação aos grupos tratados. Entre os grupos tratados não houve variação significativa quando comparadas as médias de crescimento (Tabela 01, e Figura 01).

Em estudo comparativo de populações monossexo de tilápias (*Oreochromis niloticus*), Mainardes Pinto (1985) afirmou que as fêmeas apresentavam crescimento, tanto em peso como em comprimento menor quando comparadas ao dos machos, o que diferencia dos resultados obtidos nesse trabalho.

Fryer e Iles (1972) afirmaram que o crescimento superior dos machos em ciclídeos tem base genética e não é apenas uma função do processo reprodutivo. Segundo Carvalho (1985), esta informação parece contraditória, uma vez que ele obteve melhor crescimento dos grupos submetidos a tratamento hormonal, onde havia fêmeas revertidas entre os indivíduos. Lundstedt et al. (1997), observou comprimento inferior entre machos e fêmeas de grupos controles estudados, em relação aos indivíduos submetidos a tratamento hormonal apresentando diferença significativa entre estes. Essas afirmações dos autores supracitados corroboram com os resultados encontrados no presente estudo.

Tabela 01. Tamanho dos animais dos Grupos Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA).

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
CT	50	700,67	14,0134	7,487949
T1	50	786,88	15,7376	14,36035
T2	50	631	15,775	12,48835

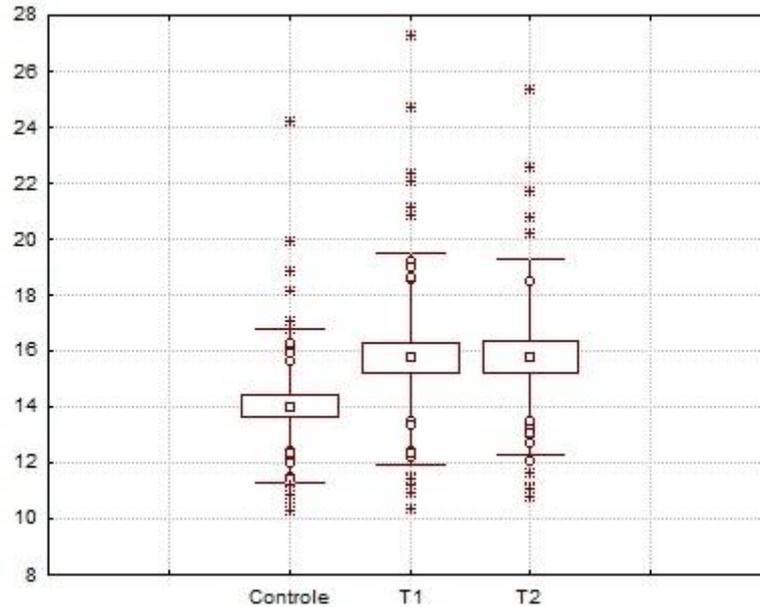


Figura 01. Médias do comprimento dos animais do Grupo Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA/Tukey).

Em relação ao peso dos indivíduos durante os primeiros 35 dias de desenvolvimento os resultados obtidos demonstraram que houve diferença entre os três grupos (GC, T1 e T2). Entre o grupo controle e o T1 a diferença foi de $P=0,01$ entre o GC e o T2 a diferença foi de $P=0,0001$ e entre o grupo T1 e T2 a diferença foi de $P=0,065$. Desse modo pode-se demonstrar que o grupo T1 apresentou maior ganho de peso em relação aos demais grupos, seguido do grupo T2 que obteve o segundo melhor desempenho de crescimento quando comparado ao grupo controle.

Analisando as relações entre peso total médio Mainardes Pinto (1985) mostrou que de um modo geral, os machos de *Oreochromis niloticus* são relativamente mais pesados que as fêmeas, discordando dos resultados obtidos nessa pesquisa onde as fêmeas tratadas com hormônio apresentaram maior ganho de peso em relação aos demais grupos.

Carvalho (1985) determinou maior aumento de peso das tilápias tratadas com hormônios e afirmou que o aumento do peso em indivíduos sexo-revertidos pode ser resultado da combinação da ação dos andrógenos com fatores genéticos.

Segundo hipótese de Fagerlund e McBride (1975), *in* Carvalho (1985), o anabolismo do andrógeno manifestar-se-ia pela superior digestão e assimilação dos alimentos ou por uma mudança na regulação gênica. Já Yamazaki (1976) afirmou que o tratamento androgênico não só provoca a reversão de sexo, mas, também aumento na taxa de digestão e de absorção de alimentos decorrente de acréscimo na atividade das proteases digestivas. O que justifica o maior aumento de peso nos indivíduos alimentados com rações adicionadas de hormônios neste trabalho.

Tabela 02. Peso dos animais dos Grupos Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA).

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
GC	50	1,9798	0,040404	0,001309
T1	50	3,1867	0,065035	0,003017
T2	50	2,4555	0,062962	0,00205

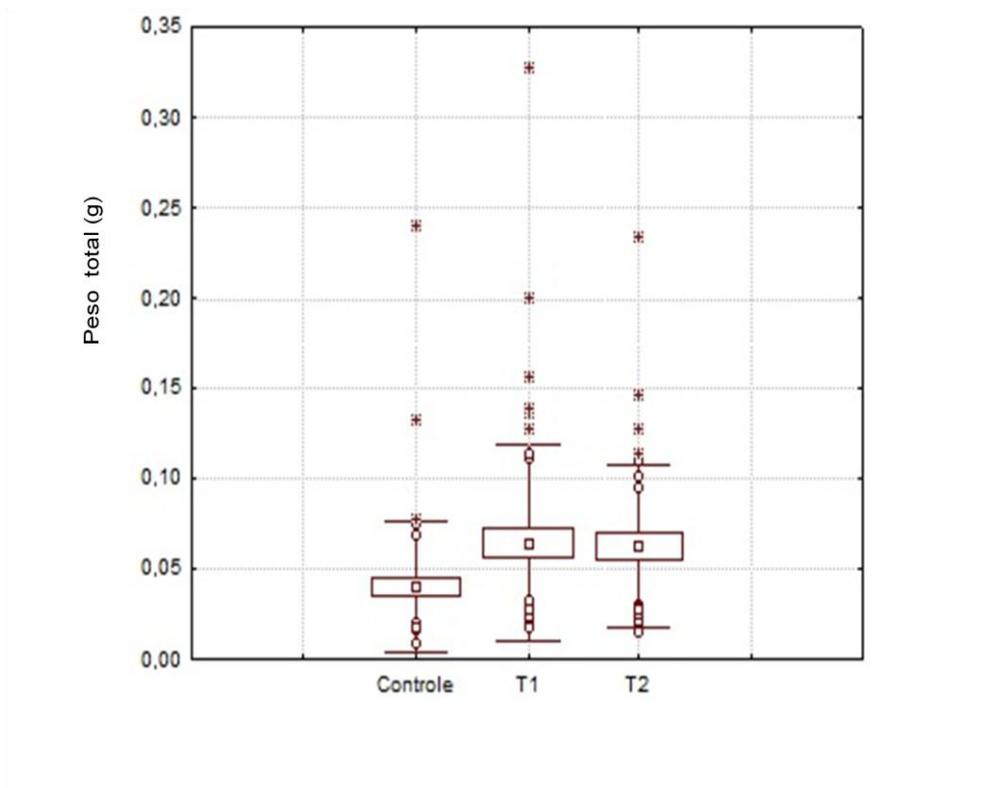


Figura 02. Médias de peso dos animais do Grupo Controle, T1 e T2 nos diferentes períodos do experimento (ANOVA/Tukey).

No que diz respeito a avaliação de comprimento em relação ao peso entre os grupos não houve diferença estatística em relação as médias de comprimento, porém em relação ao ganho de peso houve diferença entre os grupos T1 e T2 em relação ao grupo controle, demonstrando maior ganho de peso entre os grupos que foram alimentados com ração adicionada de hormônios.

Tabela 03. Diferenças entre médias de peso e comprimento entre os grupos estudados (ANOVA/Tukey).

Tratamentos	Média	
	Peso (g)	Comprimento(cm)
Controle (GC)	0,04	14,01
Tratamento 1 (T1)	0.06* ^{GC}	15.73* ^{GC}
Tratamento 2 (T2)	0.06* ^{GC}	15.77* ^{GC}

* distribuição não apresenta diferença estatística entre as médias.

^{GC}distribuição apresenta diferença estatística em relação a média do tratamento controle.

Para verificar se houve diferença significativa entre o peso e o comprimento foi utilizado análise de variância (ANOVA; $P=0.05$) e a posteriormente o teste de Tukey para identificar quais grupos diferiram um do outro.

Na análise histológica das gônadas em microscopia de luz não foram observadas diferenças morfológicas entre os três grupos experimentais (T1, T2 e GC), sendo observadas nos indivíduos de todos os grupos avaliados a presença das gônadas em pares, localizadas na cavidade celomática, protegidas por um peritônio em posição dorsal em relação aos intestinos e ventralmente aos rins e vértebras. As gônadas se encontraram revestidas por tecido epitelial simples pavimentoso protegendo um estroma conjuntivo subjacente, onde estão localizadas células gonadais indiferenciadas.

Em todos os grupos as gônadas só foram evidenciadas a partir de 25 dias de idade. Até os 35 dias de desenvolvimento as gônadas permaneceram indiferenciadas anatomicamente e histologicamente.

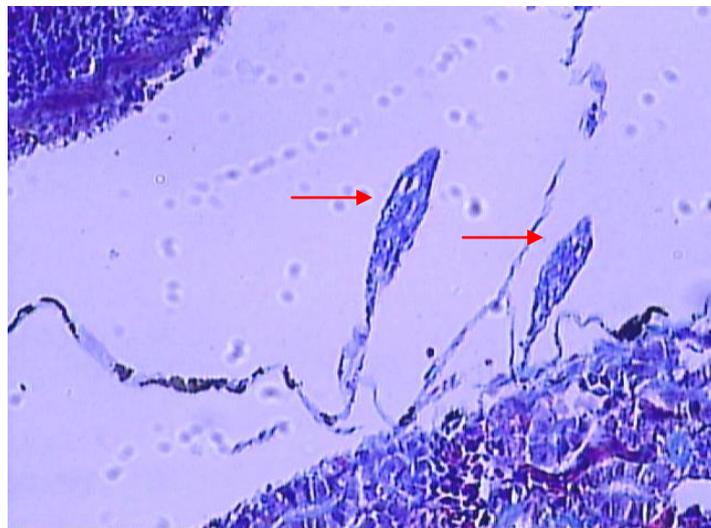
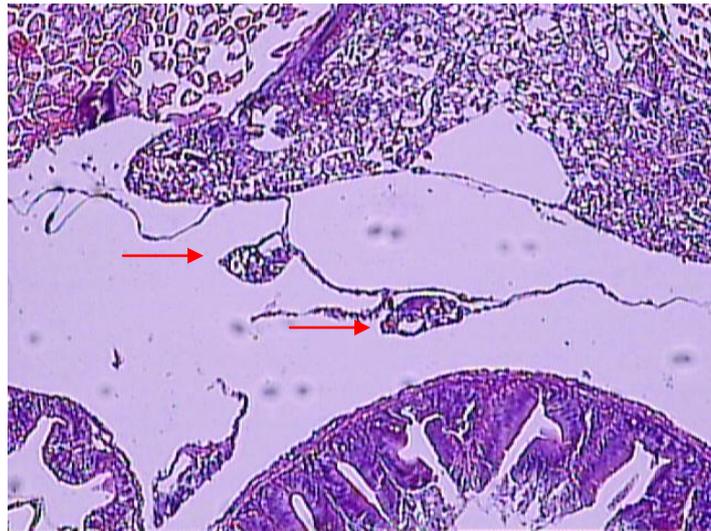


Figura 03. Fotomicrografias da cavidade abdominal de tilápias do Nilo com 30 dias de desenvolvimento, cortadas transversalmente em posição cranial – caudal. **A** grupo Controle; **B** grupo T1 e **C** grupo T2. Setas = Gônadas indiferenciadas. Em **A** e **B** aumento de $\pm 200X$. Em **C** aumento de $\pm 100X$. Coloração: **A** Hematoxilina/ Eosina. **B** e **C** Tricrômico de Gomori.

Conclusão

Constatamos em nossos resultados o que outros autores afirmam que populações de tilápias revertidas sexualmente utilizando-se hormônios andrógenos nesse processo apresentam maior crescimento e ganho de peso comparados a grupos não revertidos, o que sugere que os hormônios utilizados nos tratamentos sejam responsáveis por esta resposta.

Verificamos ainda que não é possível ser realizada sexagem das gônadas da tilápia do Nilo até os 35 dias de desenvolvimento, devido a indiferenciação morfológica tanto anatômica quanto histológica dessas estruturas até essa idade de crescimento.

Referências

- BEÇAK, W. & PAULETE, J. 1976. Técnicas de citologia e histologia. Vol. 1 e 2. Livros Técnicos e Científicos. Editora S.A, 574 p.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C. & FREITAS-NETO, A.G. 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. EDART/EDUSP, 241 p.
- CARRASCO, L.A.P.; PENMAN, D.J.; VILLALOBOS, S.A. et al. The effects of oral administration with 17 α - methyltestosterone on chromosomal synapses in *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Mutation Research*, v.430, p.87-98, 1999.
- CARVALHO, E.D.; FORESTI, F. Reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, induzida por 17-alfa-metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. *Revista Brasileira de Biologia*, v.56, p.249-262, 1996.
- GUERREIRO III, R.D. 1975. Use of androgens for production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner) *Transaction of American Fisheries Society*, 104(2):342-348.
- IPEASC – INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. *Pescado em Santa Catarina*. Florianópolis, 1996. 86 p.
- JUNQUEIRA, L.C.U. & JUNQUEIRA, L.M.M.S. 1983. Técnicas básicas de citologia e histologia. Livraria Editora Santos, 123 p.

PINHEIRO, L. M. S. et al., Rendimento industrial de filetagem da tilápia tailandesa (*Oreochromis spp.*) Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 58, n. 2, p. 257-262, 2006.

POPMA T. & MASSER M. (1999) *Tilapia Life History and Biology. Southern Regional Aquaculture Center Publication no. 283.*

Sistema de informação das autorizações de uso das águas de domínio da União para fins de aquicultura. (2006). Disponível em: <<http://200.198.202.145/seap/sinau/produção.htm>>. (acesso: 13 mar. 2006)

MAINARDES-PINTO, C.S.R.; FENERICH-VERANI, N.; CAMPOS, B.E.S. et al. Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metiltestosterona. Rev. Bras. Zootec., v.29, p.654-659, 2000.

MAKINO, L.C. Validação dos métodos de identificação do sexo em tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) revertidas com rações contendo diferentes granulometrias e de diferentes idades. 2005. 31f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.6, 2003^a

PHELPS, R.P., SALAZAR, G.C., ABE, V., ARGUE, B. 1995. Sex reversal and nursery growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), free-swimming in earthen ponds. Aquac. Res., 26:293-295.

TOYAMA, G.N.; CORRENTE, J.E.; CYRINO, J.E.P. Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual da tilápia do Nilo. Sci. Agric., v.57, p.221-228, 2000.

SEGUNDO ARTIGO:

ESTUDO MORFOLÓGICO E BIOMÉTRICO DE OVÁRIOS E TESTÍCULOS DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDOS A TRATAMENTOS HORMONAIS PARA REVERSÃO SEXUAL

Maria Goretti Soares e Joaquim Evêncio Neto

RESUMO

Este trabalho objetivou estudar a morfologia e biometria de ovários e testículos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que foram submetidos a tratamentos hormonais para reversão sexual. Foram utilizados 30 adultos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Os animais foram cultivados por 24 semanas em tanques rede recebendo ração adicionada de hormônios. Durante os 30 primeiros dias de desenvolvimento as larvas foram divididas em 03 grupos - Grupo T1: ração comercial adicionada de 17 - β - estradiol (20 mg/kg), Grupo T2: ração comercial adicionada de 17 - α - metiltestosterona (60 mg/kg) e Grupo Controle (GC): animais alimentados com ração comercial livre de aditivos. Após essa fase os animais foram alimentados com ração comercial específica para cada fase do cultivo. Para preparo da ração dos grupos T1 e T2, foram utilizadas soluções de álcool - hormônio segundo Popma e Green (1990). Para obtenção do material biométrico os animais foram eutanasiados por apóxia, foram aferidos os comprimentos, CT (comprimento total), CP (comprimento padrão), bem como o peso total do animal (PT) e o peso eviscerado (PE). Logo após os animais foram identificados macroscopicamente quanto ao sexo. Em seguida as gônadas foram retiradas, medidas, pesadas e fixadas em formol neutro tamponado a 10% por 24 horas e processadas segundo os métodos usuais para histologia de rotina. Para análise estatística foram aplicados os testes de ANOVA e de Tukey. A análise biométrica revelou que os animais analisados dos três grupos tiveram média de 20,8 cm de comprimento e peso médio de 161,9 g. Em relação ao peso também houve diferenças entre o grupo controle e os tratados, onde o grupo controle teve ganho de peso inferior a T1 e T2 e entre T1 e T2 o ganho foi similar. Os resultados encontrados nessa pesquisa mostraram histologicamente que os animais tratados 17 - α - metiltestosterona apresentaram alterações no estroma testicular. No que diz respeito aos animais tratados com 17 - β estradiol, não houve alterações morfológicas e histológicas. Com base nos resultados obtidos pudemos concluir que a adição de hormônios esteroides da dieta alimentar da Tilápia do Nilo no início do seu desenvolvimento repercute significativamente no comprimento e ganho de peso final dos animais e que o processo de reversão utilizando o hormônio β estradiol (Grupo T1) se mostrou mais eficaz que nos animais tratados com α metiltestosterona. Histologicamente todos os grupos apresentaram características comuns aos demais teleósteos, com diferenças do padrão considerado normal apenas nos animais classificados como intersexo.

Palavras-chave: gônadas, hormônios, teleósteos

ABSTRACT

This study investigated the morphology and biometry of ovaries and testes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) who underwent hormonal treatment for sex reversal. We used 30 adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The animals were cultured for 24 weeks in tanks receiving feed network with added hormones. During the first 30 days of development of the larvae were divided into 03 - Group T1 was added commercial 17 - β - estradiol (20 mg / kg) Group T2: commercial feed added 17 - α - methyltestosterone (60 mg / kg) and Control Group (CG): animals fed with commercial diet free of additives. After this phase the animals were fed with commercial feed specific to each stage of cultivation. To prepare the ration of T1 and T2 were used solutions of alcohol - second hormone Popma and Green (1990). To obtain the biometric material animals were euthanized by apóxia were measured lengths, CT (length), CP (standard length) and the total weight of the animal (PT) and gutted weight (PE). Soon after the animals were macroscopically identified as to sex. Then the gonads were removed, measured, weighed and fixed in neutral buffered formalin 10% for 24 hours and processed according to the usual methods for routine histology. Statistical analyzes were applied ANOVA and Tukey. The biometric analysis revealed that the three groups of animals tested had a mean of 20.8 cm long and weighing 161.9 g. In relation to weight also were no differences between the control and treated, where the control group had weight gain less than T1 and T2 and between T1 and T2, the gain was similar. The results found in this study showed that animals treated histologically 17 - α - methyltestosterone exhibited alterations in testicular stroma. With respect to animals treated with 17 - β estradiol, no morphological and histological Based on the results we concluded that the addition of steroid hormones in the diet of Nile tilapia at the beginning of its development significantly affects the length and gain final weight of the animals and that the reversal process using the hormone β estradiol (T1 Group) was more effective than animals treated with α methyltestosterone. Histologically, all groups showed features common to other teleosts, with differences considered normal only in animals classified as intersex.

Keywords: gonads, hormones, teleosts

Introdução

Pertencentes à Ordem Perciformes, família Cichlidae, as tilápias são oriundas do continente africano, sendo encontradas principalmente nas bacias dos rios Nilo, Níger, Tchade e nos lagos do centro-oeste (Verani, 1980). Foram introduzidas em mais de 100 países das regiões tropicais e subtropicais, tanto para melhorar a produtividade pesqueira como para auxiliar o desenvolvimento da aquicultura (Coward e Bromage, 2000; Lèveque, 2002).

O avanço da tilapicultura no mundo inteiro está levando a uma intensificação dos cultivos, provocado principalmente pela diminuição da pesca marinha e maior procura pelo pescado devido às qualidades saudáveis de sua carne. Um dos sintomas dessa intensificação é a busca por linhagens de desempenho superior.

Várias linhagens de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1757) têm surgido no mundo, dentre estas a Tailandesa ou Chitralada e a Genomar Supreme, que vêm merecendo especial atenção devido a seu comportamento dócil e elevado potencial de produção.

O comportamento reprodutivo da tilápia é profundamente influenciado pela forma de reprodução da espécie. No gênero *Oreochromis*, por exemplo, os machos constroem os ninhos para a desova e desenvolvem estruturas sexuais secundárias (Turner e Robinson, 2000).

De acordo com Brummett (1995), a temperatura, a intensidade da luz, a qualidade da água, a quantidade e qualidade do alimento são fatores que influenciam na reprodução da tilápia.

O principal problema da criação de tilápia é a maturação e reprodução precoce (três a seis meses, dependendo da espécie), resultando em uma superpopulação nos

viveiros de engorda, ocasionando assim, uma interrupção no crescimento dos peixes (Stickney, 2000; Biswas, 2005).

Yamamoto (1969) descreve que hormônios esteróides podem ser usados para modificar, fenotipicamente, o sexo dos peixes. Desde então, hormônios andrógenos vêm sendo amplamente utilizados para produzir populações exclusivamente masculinas em várias espécies de tilápia, como pode ser visto nas pesquisas de Mc Andrew (1993), Macintosh e Little (1995) e Green et al. (1997).

A produção monossexo de machos de tilápia, através da adição do hormônio andrógeno 17 – α metiltestosterona na ração ofertada às larvas, é considerada a forma que apresenta os melhores resultados na reversão sexual da tilápia (Penman e Mc Andrew, 2000).

Estudos recentes sobre a tilápia do Nilo, demonstraram que as altas temperaturas da água causam efeitos semelhantes aos provocados pelos hormônios esteróides na reversão sexual, com variações nas proporções macho/fêmea de acordo com a termossensibilidade das linhagens e das famílias dos peixes estudados (Baroiller et al., 1995; Abucay et al., 1999; Baroiller et al., 1999; Baras et al., 2001).

O processo da reversão sexual é praticado, quando um dos sexos possui marcada superioridade na taxa de crescimento em relação ao outro, além de ser vantajoso no controle da reprodução, na contenção de gastos energéticos na reprodução, uniformidade de tamanho e na redução dos efeitos da maturação sexual sobre a aparência e a qualidade da carne (Beardmore et al., 2001).

As tilápias apresentam várias características favoráveis à criação, entre elas podem ser citadas: altas taxas de crescimento, principalmente nos machos (Toguyéni et al., 2002), alta conversão alimentar aparente (Kubitza, 2000), resistência a doenças

(Plumb, 1997; Ardjosoediro & Ramnarine, 2002), a altas densidades (Gall & Bakar, 1999) e a baixas concentrações de oxigênio dissolvido (El-Sayed & Kawanna, 2004).

Castro et al. (2003) relataram que já é reconhecida a importância dos estudos da morfologia em peixes para o desenvolvimento de uma piscicultura competitiva. No entanto, tem sido muito comum, a criação de peixes sem o prévio conhecimento de suas estruturas e do seu comportamento, acarretando consequências no custo da produção, deficiência alimentar e alto índice de mortalidade.

A demanda de peixes em nosso país vem aumentando progressivamente, com obtenção de alevinos de boa qualidade como parte fundamental no processo de produção. A larvicultura corresponde ao período mais importante dentro da cadeia produtiva, pois é a partir do bom gerenciamento dessa fase que se obtêm os melhores índices de qualidade e produção animal, desejados nas fases posteriores (Meurer et al., 2005).

Para tanto, este trabalho objetivou estudar a morfologia e biometria de ovários e testículos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que foram submetidos a tratamentos hormonais para reversão sexual.

Material e Métodos

Foram utilizados 30 adultos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Os animais foram cultivados por 24 semanas em tanques rede recebendo ração adicionada de hormônios. Durante os 30 primeiros dias de desenvolvimento as larvas foram divididas em 03 grupos - **Grupo T1:** animais alimentados com ração comercial adicionada de $17 - \beta$ - estradiol (20 mg/kg), **Grupo T2:** animais alimentados com ração comercial adicionada de $17 - \alpha$ - metiltestosterona (60 mg/kg) e **Grupo Controle (GC):** animais alimentados com ração comercial livre de aditivos. Após essa fase os animais

foram alimentados com ração comercial específica para cada fase do cultivo. Os animais de todos os grupos foram alimentados 5 vezes ao dia, durante 30 dias.

Para preparo da ração dos grupos T1 e T2, foram utilizadas soluções de álcool – hormônio segundo Popma e Green (1990). Onde os hormônios foram diluídos em solução de álcool absoluto e misturados a ração.

Para obtenção do material histológico os animais foram eutanasiados por apóxia, posteriormente foram aferidos os comprimentos, CT (comprimento total), CP (comprimento padrão), utilizando-se paquímetro, bem como o peso total do animal (PT) e o peso eviscerado (PE), utilizando balança eletrônica digital com precisão de 0,01g. Logo após os animais foram identificados macroscopicamente quanto ao sexo e estado maturacional. Em seguida as gônadas foram retiradas, medidas, pesadas e fixadas em formol neutro tamponado a 10% por 24 horas.

Os fragmentos das gônadas foram desidratados em etanol em ordem crescente de 80% a 100%, em seguida foram diafanizados pelo xilol, impregnados em parafina em estufa regulada à temperatura de 58 °C e incluídos em parafina (Beçak & Paulete, 1976; Behmer et al., 1976; Junqueira e Junqueira, 1983)

Os blocos foram cortados em micrótomo (Leica), ajustado para 5 micrômetros (μm). Em seguida os cortes obtidos foram corados pelo método de Hematoxilina/Eosina-Floxina e Tricrômico de Gomori. A análise histológica foi realizada utilizando um microscópio biológico trinocular NIKON 50i acoplado a um sistema de captura de imagem microscópica. As imagens obtidas foram analisadas pelo sistema de análise de imagem IMAGILAB 2000.

Para análise estatística foram aplicados os testes de ANOVA para evidenciar diferenças entre os tratamentos realizados e de Tukey para mostrar as diferenças entre os grupos estudados (Mendes, 1999).

Resultados e Discussão

A análise biométrica revelou que os animais analisados dos três grupos tiveram média de 20,8 cm de comprimento e peso médio de 161,9 g. Urbinati (1999) verificou o mesmo padrão de comprimento e peso para Tilápia do Nilo.

O comprimento dos animais apresentou-se diferente entre os grupos Controle, T1 e T2. Em relação ao grupo controle, os grupos T1 e T2 tiveram crescimento mais significativo (ANOVA), (tabela 1, figura 1). Já entre os grupos T1 e T2, o crescimento foi semelhante, isso sugere que o tratamento hormonal com estradiol e testosterona no início do desenvolvimento dos animais influenciou nessa diferenciação.

Tabela 01. Diferença de comprimento entre os grupos.

* Gc/T1	Gc/T2	T1/T2
Difere $p < 0.05$, $p = 0.0245$	Difere $p < 0.05$, $p = 0.011$	Não Difere, $p > 0.05$, $p = 0.187$

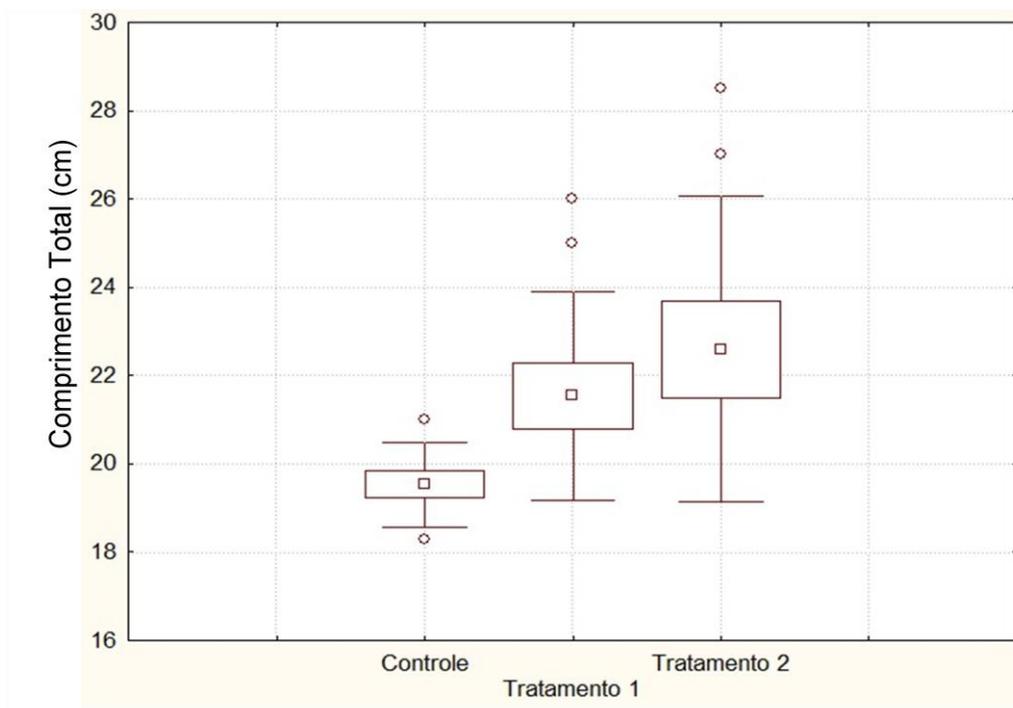


Figura 01. Diferença de comprimento entre os tratamentos (ANOVA).

Segundo Weatherley (1972), o peixe cresce rapidamente quando o alimento e o espaço físico são satisfatórios. No caso de peixes crescidos em viveiros, esse padrão

pode ser alterado (URBINATI, 1999). Nossos resultados mostraram alto crescimento nos grupos tratados, o que deve ser atribuído ao uso dos hormônios esteroides, substituindo uma possível suplementação alimentar.

Hanson et al. (1983) e Pandian e Sheela (1995), demonstraram que Tilápias sexo revertidas tem crescimento duas vezes maior, o que corrobora com nossos resultados.

Em relação ao peso também houve diferenças entre o grupo controle e os tratados, onde o grupo controle teve ganho de peso inferior a T1 e T2 e entre T1 e T2 o ganho foi similar (figura 2).

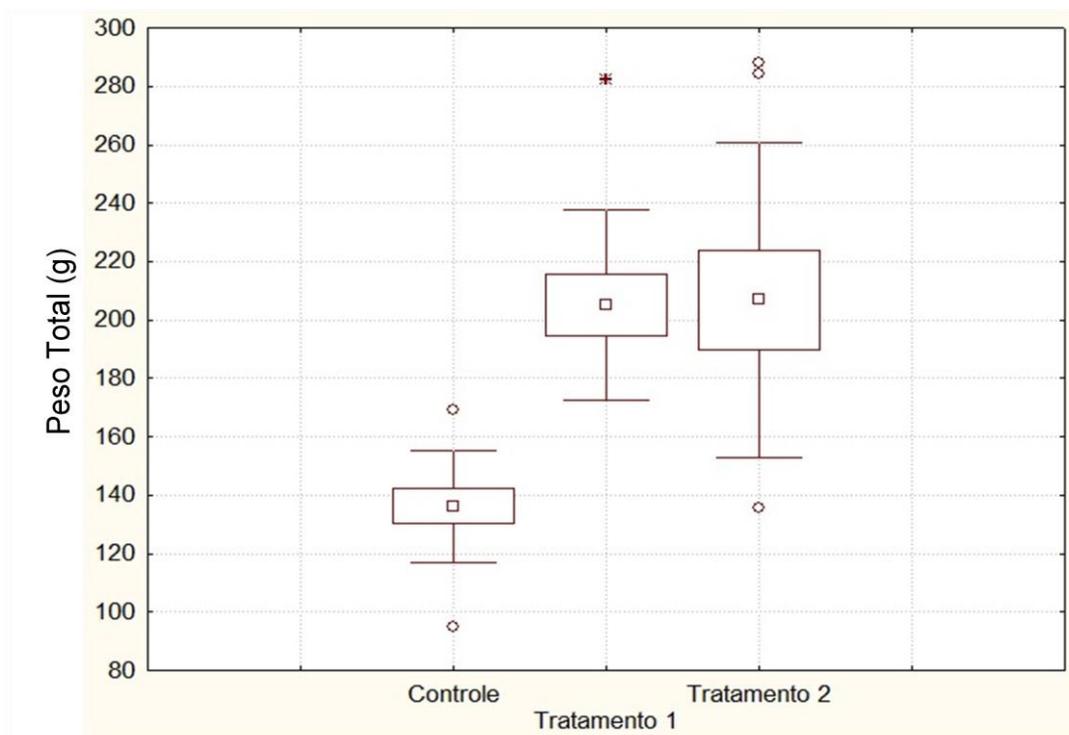


Figura 02. Diferença de ganho de peso entre os tratamentos estudados. Gc/T1 $P < 0,05$ $P = 0.000113$; Gc/T2 $P < 0.05$ $P = 0.0006$; T1/T2 $P > 0.05$ $P = 0.45$.

Leonhardt e Urbinati (1999) descreveram ganho de peso final de 0,87 kg, sendo assim esse estudo não alcançou a capacidade máxima em ganho de biomassa para cultivo em tanques-rede.

Em relação a caracterização anatômica das gônadas Carvalho (1985) revelou que em larvas de tilápia do Nilo submetidas a doses de 30 mg/kg do hormônio 17 - α - metiltestosterona por até 40 dias de tratamento não foram encontradas alterações nos testículos.

Os resultados encontrados nessa pesquisa mostraram histologicamente que os animais tratados com 60mg/kg do hormônio 17 - α - metiltestosterona durante 30 dias apresentaram alterações no estroma testicular, mostrando certa desorganização estrutural e vestígios de tecido ovariano. Essa alteração sugere um excesso na dose do hormônio metabolizado pelos animais, atuando nas células indiferenciadas induzindo o aparecimento de alterações morfológicas durante a mudança da gônada de ovário para testículo. Carvalho (1985) classifica como intersexos os animais que apresentam essas características.

No que diz respeito aos animais tratados com 17 - β estradiol, não houve alterações morfológicas e histológicas e nos animais coletados para análise a reversão para fêmeas ocorreu em 100% dos indivíduos avaliados.

Histologia dos Ovários

Os ovários são estruturas pares, cilíndricas que se situam na região dorsal da cavidade abdominal e estão firmemente presos a essa cavidade.

Histologicamente os ovários se apresentaram revestidos por epitélio simples plano e logo abaixo uma túnica albugínea de tecido conjuntivo, cuja espessura variou de acordo com a fase de maturação encontrada.

A túnica albugínea está constituída por tecido conjuntivo, células musculares lisas e vasos sanguíneos. No parênquima do ovário se observou células em diferentes estágios de desenvolvimento maturacional. Foi observado que o desenvolvimento

ovocitário está caracterizado em duas fases distintas: Fase pré-vitelogênica e Fase vitelogênica, onde foram encontrados quatro tipos de células (ovogônias, ovócitos I, ovócitos II e ovócitos maduros). Segundo Vazzoler (1996), a fase pré-vitelogênica se caracteriza por apresentar células germinativas jovens, ovócitos em estoque de reserva e início da formação da vesícula vitelínica; já a fase vitelogênica apresenta o início da deposição de proteínas na forma de plaquetas acidófilas, aumento e amadurecimento do ovócito e deposição de lipídios.

Na fase pré-vitelogênica as células germinativas encontradas foram ovogônias e ovócitos I. Na fase vitelogênica as células germinativas mais abundantes foram os ovócitos II e ovócitos maduros. Esses resultados corroboram com os encontrados por Lima et al (1986) para *S. maxillosus* e Verengue e Orsi (2003) para *Astyanax scabripinnis*.

O mesmo critério de classificação histológica levando em consideração as fases de vitelogênese foi utilizado por Agostinho (1991) para a espécie *Hypophthalmus edentatus* teleósteo da ordem Siluriforme.

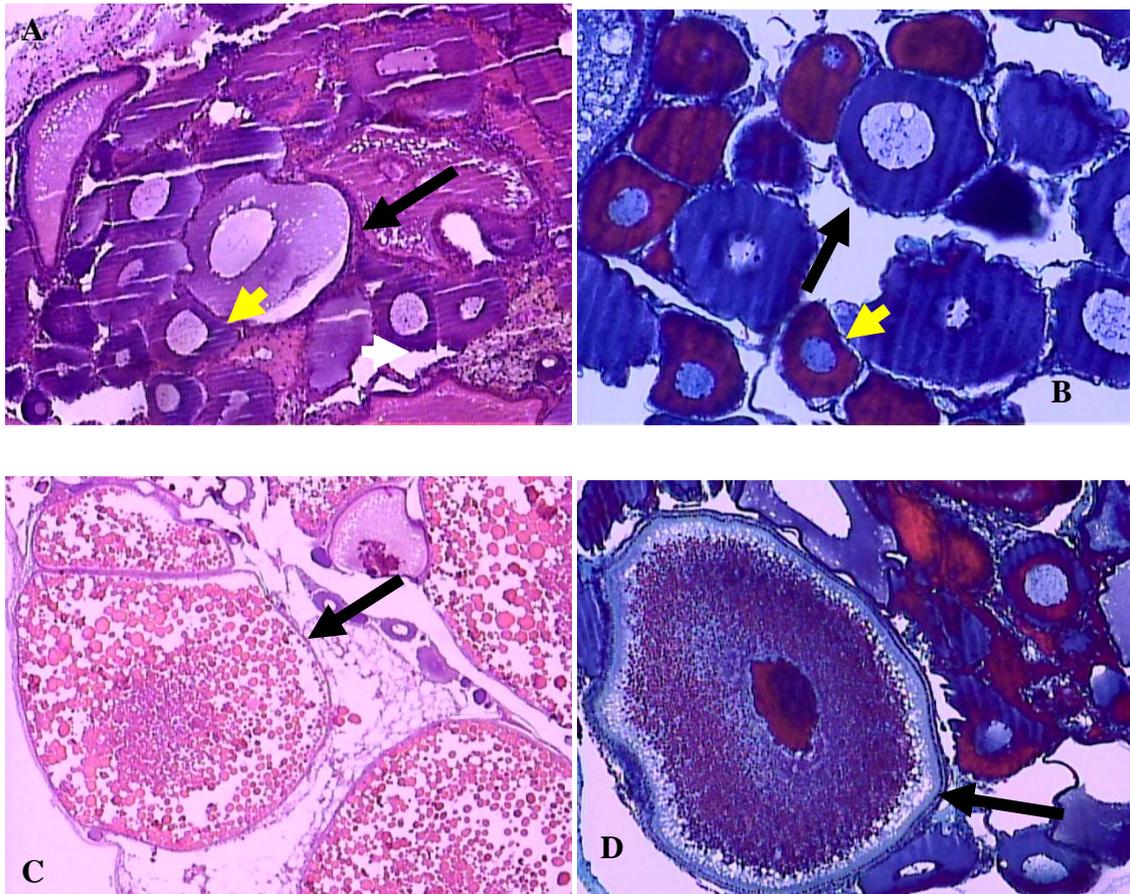


Figura 03. Fotomicrografias de Ovários de Tilápia do Nilo. Observar em A e B ovócitos I (cabeça de seta) e II (seta). Coloração: Hematoxilina/Eosina e Tricrômico de Gomori. Aumento: $\pm 100X$. Em C e D ovócitos maduros (seta). Coloração: Hematoxilina/Eosina e Tricrômico de Gomori. Aumento: C= $\pm 100X$ e D= $\pm 400X$.

Histologia dos Testículos

Os testículos formam estruturas pares, localizados dorsalmente na cavidade celomática e nela fixadas. Se apresentou como uma estrutura triangular com a porção caudal mais afilada. Histologicamente estão revestidos por uma túnica albugínea de tecido conjuntivo que se apresenta espessa na região dorsal do órgão de onde se originam septos que dividem o órgão em lobos testiculares.

No parênquima testicular visualizou-se túbulos seminíferos, com células germinativas em vários estágios de maturação, onde a determinação do tipo celular foi

realizada de acordo com as características do citoplasma, núcleo e tamanho das células. Este mesmo padrão de diferenciação foi utilizado por Zaiden (2000).

Puderam ser observados quatro tipos celulares distintos: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides.

As espermatogônias foram as maiores células observadas, apresentando citoplasma abundante, núcleo grande e esférico com nucléolo único. Foram observadas em todas as fases maturacionais encontradas, próximas as paredes dos túbulos. Os espermatócitos aparecem agrupadas em cistos, com núcleo basófilo e citoplasma pouco distinguível. As espermátides possuem núcleo arredondado e bem basófilo. Os espermatozóides são as menores células da linhagem germinativa e foram visualizados ocupando a região central dos túbulos seminíferos.

Em relação a maturação gonadal foram observados testículos em duas fases distintas: maturação e maduro.

Segundo Grier (1993) a fase de maturação se caracteriza por apresentar células em espermatogênese, onde se inicia o processo de diferenciação celular, já a fase madura as células estão em espermiogênese produzindo espermatozoides em grande quantidade, sendo estes armazenados nos túbulos seminíferos.

Na fase de maturação os testículos se apresentaram com coloração vermelho-pálido, ocupando considerável espaço na cavidade abdominal, microscopicamente se caracterizaram por apresentar cistos, com células germinativas em diferentes fases de desenvolvimento e no lúmen dos túbulos seminíferos, pequena quantidade de espermatozóides. Quando maduros, macroscopicamente os testículos ocupavam grande espaço na cavidade abdominal e apresentaram coloração esbranquiçada, microscopicamente os lumens dos túbulos seminíferos estavam repletos de

espermatozóides e além dessas células apresentaram apenas a presença de espermatogônias isoladas.

Além dessas fases descritas, foram encontrados ainda testículos denominados como intersexos, já descritos por Carvalho (1995) onde macroscopicamente apresentaram um tipo gonadal e microscopicamente outro, além de apresentar microscopicamente testículos em maturação gonadal, com túbulos seminíferos cheios de espermatozóides, porém com resíduos ovocitários em seu estroma, onde a coloração do tricrômico de Gomori diferenciou do estroma conjuntivo adjacente.

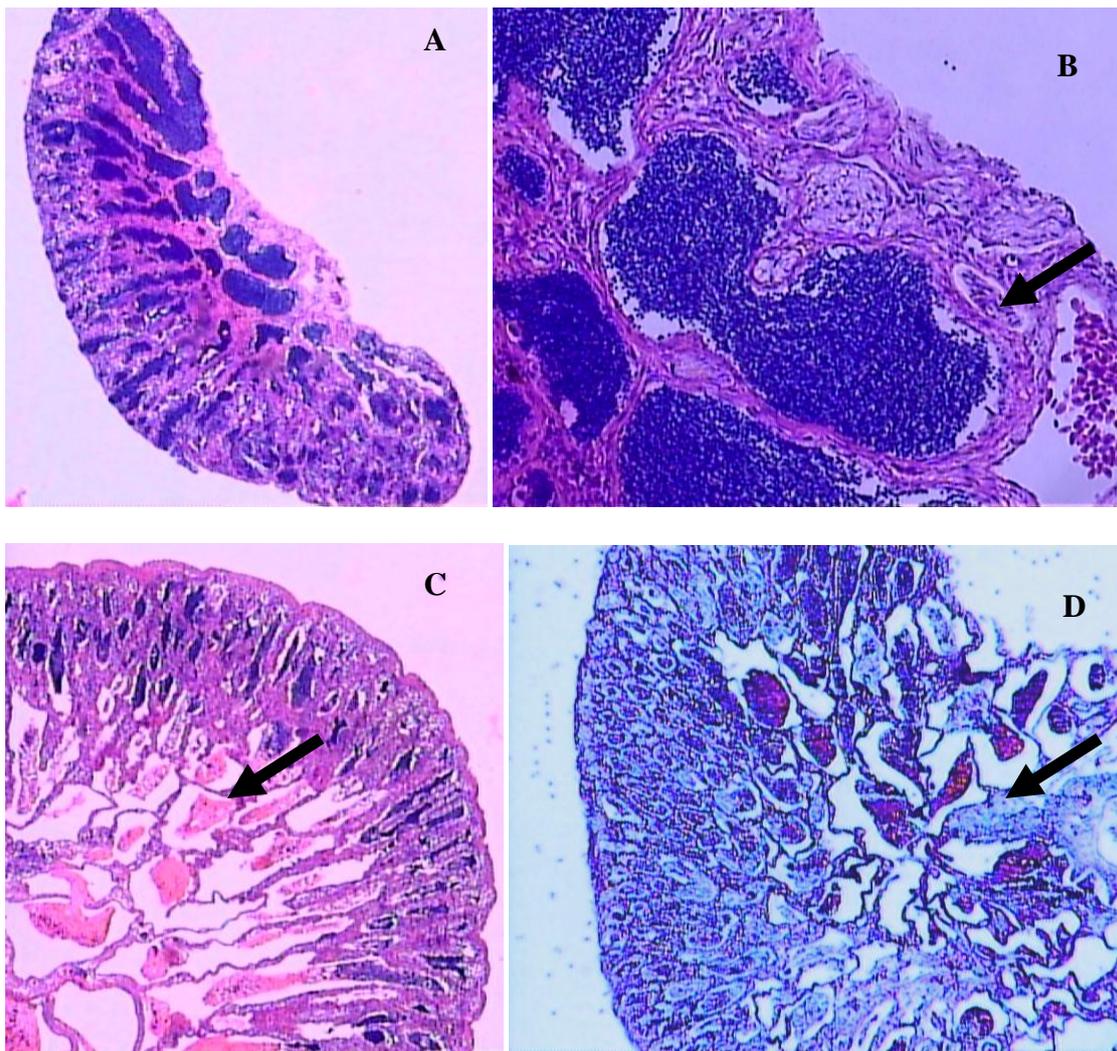


Figura 04. Fotomicrografias de testículos de Tilápia do Nilo. Observar em **A** vista panorâmica do testículo com composição morfológica característica e em fase de maturação. Aumento $\pm 40X$, Coloração: H.E. Em **B** testículo maduro, com túbulos seminíferos cheios de espermatozoides (seta). Aumento: $\pm 400X$, Coloração: H. E. Em **C** e **D** testículo de animal intersexo, observar estroma com resíduo ovariano (seta). Aumento: $\pm 100X$. Coloração: em C= H.E. e em D= Tricrômico de Gomori.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos pudemos concluir que a adição de hormônios esteroides da dieta alimentar da Tilápia do Nilo no início do seu desenvolvimento repercute significativamente no comprimento e ganho de peso final dos animais em relação aos animais alimentados com ração sem aditivos.

Concluimos também que o processo de reversão utilizando o hormônio β estradiol (Grupo T1) se mostrou mais eficaz com taxa de reversão de 100%, os animais

submetidos a esse tratamento hormonal tiveram ainda aumento no comprimento e ganho de peso diferenciados em relação aos demais grupos (Grupo Controle e Grupo T2).

Os animais tratados com α metiltestosterona (Grupo T2), tiveram aumento de tamanho e ganho de peso significativos em relação ao grupo controle, mas, similares ao grupo T1. Porém a taxa de reversão não foi total assim como no grupo T1, apresentando animais com características anatômicas e histológicas comuns a ambos os sexos, esses animais foram classificados como intersexo, onde os testículos apresentaram resíduos de estroma ovariano.

No que diz respeito a avaliação histológica, todos os grupos apresentaram características comuns aos demais teleósteos, com diferenças do padrão considerado normal apenas nos animais classificados como intersexo.

Referências

ABUCAY, J.S.; MAIR, G.C.; SKIBINSKI, D.O.F.; BEARDMORE, J.A. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, v.173, p.219-234, 1999.

ARDJOSOEDIRO, I.; RAMNARINE, I.W. The influence of turbidity on growth, feed conversion and survivorship of the Jamaica red tilapia strain. *Aquaculture*, v. 212, p.159–165, 2002.

BAROILLER, J.F.; CHOURROUT, D.; FOSTIER, A.; JALABERT, B. Temperature and sex chromosomes govern sex-ratios of mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *Journal of Experimental Zoology*, v.273, p.216-223, 1995.

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

BARAS, E.; JACOBS, B.; MÉLARD, C. Effect of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX-XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, v.192, p.187- 199, 2001.

BAROILLER, J.F.; D'COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, v.130, p.399-409, 2001.

BISWAS AK, MORITA T, YOSHIZAKI G, MAITA M, TAKEUCHI T. 2005. Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 243:229-239.

BRUMMETT, R.E., CHIKAFUMBWA, F.J.K., 1995. Management of rainfed aquaculture on Malawian smallholdings. Symposium on Sustainable Aquaculture. Pacific Congress on Marine Science and Technology, Honolulu, HI, USA, 11–14 June 1995.

COWARD, K.; BROMAGE, N.R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 10, p.1–25, 2000.

EL-SAYDI, D.M.S.D.; GABER, M.M.A. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), cultured in concrete tanks. *Aquaculture Research*, v.36, p.163-171, 2005.

GALL, G.A.E.; BAKAR, Y. Stocking density and tank size in the design of breed improvement programs for body size of tilapia. *Aquaculture*, v. 173, p.197–205, 1999.

GREEN, B.W.; VEVERICA, K.L.; FITZPATRICK, M.S. Fry and fingerling production. In: EGNA, H.S.; BOYD, C.E. (Ed.) *Dynamics of pond aquaculture*. Boca Raton: CRC Press, 1997. p.215-243.

HASSANEIN, H.M.A. Toxicological effects of the herbicide oxyfluorfen on acetylcholinesterase in two fish species: *Oreochromis niloticus* and *Gambusia affinis*. *J. Environ. Sci. Health, Part A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.*, v.37, p.521-527, 2002

PLUMB, J.A. Infectious diseases of tilapia ,in: B.A. Costa-Pierce, J.E. Rakocy (Eds.), Tilapia Aquaculture in the Americas, vol. 1 World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana (1997), pp. 212–228

Kubitza, F. 2000. Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. 1. ed. Jundiaí: F. Kubitza. 285 p.

LÈVEQUE, C. Out of Africa: the success story of tilapias. Environmental Biology of Fishes, v. 64, p.461–464, 2002.

MACINTOSH, D.J.; LITTLE, D.C. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: BROMAGE, N.R.; ROBERTS, R.J. (Ed.). Broodstock management and egg and larval quality. Oxford: Blackwell Science, 1995. p.277-320.

MCANDREW AND MAJUMDAR, 1983 B.J. MCANDREW, K.C. Majumdar Tilapia stock identification using electrophoretic markers Aquaculture, 30 (1983), pp. 249–261

MCANDREW, B.J. (Eds.) Tilapias: biology and exploitation. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.33-58

VERANI, J.R., 1980. Controle populacional em cultivo intensivo consorciado entre a tilápia do Nilo *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus, 1757) e o tucunaré comum *Cichla ocellaris* Schneider, 1801: Aspectos quantitativos, 116p. Dissertação de Mestrado, Unversidade de São Carlos, Brazil.

STICKNEY RR. 2000. Tilapia culture. In: Stickney RR (Ed.). Encyclopedia of Aquaculture. New York, NY: John Wiley. pp. 934-941.

TURNER, G.F.; ROBINSON, R.L. Reproductive biology, mating systems and parental care. In: BEVERIDGE, M.C.M.;

YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W.S.; RANDALL D.J. (Eds.) Fish physiology. New York: Academic Press, 1969. v.3, p.117-175.

NORMA PARA PUBLICAÇÃO DOS ARTIGOS: REVISTA BRASILEIRA DE ZOOTECNIA

Os trabalhos já publicados ou sob consideração em qualquer outra publicação não serão aceitos. Ressalta-se que esta norma não é válida para resumos expandidos.

Só serão aceitos trabalhos escritos em português ou inglês.

O texto deve ser elaborado segundo as normas da RBZ e orientações disponíveis no link "Instruções aos autores".

Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Resumo, Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

Pode conter até 25 páginas, numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos.

As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: MENU ARQUIVO/CONFIGURAR PÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../ NUMERAR LINHAS), com paginação contínua e centralizada no rodapé.

Estrutura do artigo

O artigo deve ser dividido em seções com cabeçalho centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimento e Literatura Citada.

Não serão aceitos cabeçalhos de terceira ordem.

Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

Título

Deve ser preciso e informativo. Quinze palavras são o ideal e 25, o máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos em crescimento. Indicar sempre a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé numerada.

Autores

Deve-se listar até seis autores. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenuto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenuto).

Outras pessoas que auxiliaram na condução do experimento e/ou preparação/ avaliação do trabalho devem ser mencionadas em Agradecimento.

Resumo

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaço. As informações do resumo devem ser precisas e informativas. Resumos extensos serão devolvidos para adequação às normas.

Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução. Referências nunca devem ser citadas no resumo.

O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Abstract

Deve aparecer obrigatoriamente na segunda página e ser redigido em inglês científico, evitando-se sua tradução por meio de aplicativos comerciais.

O texto deve ser justificado e digitado em espaço 1,5, começando por ABSTRACT, em parágrafo único, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Palavras-chave e Key Words

Apresentar até seis (6) palavras-chave e Key Words imediatamente após o RESUMO e ABSTRACT, respectivamente, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separado por vírgulas. Não devem conter ponto final.

Introdução

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaço.

Deve-se evitar a citação de várias referências para o mesmo assunto.

Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas.

Material e Métodos

Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

Resultados e Discussão

Os resultados devem ser combinados com discussão. Dados suficientes, todos com algum índice de variação incluso, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. A discussão deve interpretar clara e concisamente os resultados e integrar resultados de literatura com os da pesquisa para

proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas.

Evitar parágrafos soltos e citações pouco relacionadas ao assunto.

Conclusões

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço.

Não devem ser repetição de resultados. Devem ser dirigidas aos leitores que não são necessariamente profissionais ligados à ciência animal. Devem explicar claramente, sem abreviações, acrônimos ou citações, o que os resultados da pesquisa concluem para a ciência animal.

Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na *home page* da RBZ link Revista>Instruções aos autores.

Deve-se evitar o uso de abreviações não consagradas e de acrônimos, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor.

Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as Tabelas sejam digitadas segundo menu do Word "Inserir Tabela", em células distintas (não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação.

Devem ser numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, devendo-se adotar as abreviaturas divulgadas oficialmente pela RBZ.

A legenda das figuras (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

As figuras devem ser gravadas no programa Word, Excel ou Corel Draw (extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções.

Usar linhas com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras, usar diferentes efeitos de preenchimento (linhas horizontais, verticais, diagonais, pontinhos etc). Evite os padrões de cinza porque eles dificultam a visualização quando impressos.

As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas.

Não usar negrito nas figuras.

Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras devem conter vírgula, e não ponto.

Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Não fazem parte da lista de referências, sendo colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, o nome, estado e país da instituição à qual o autor é vinculado.

Literatura Citada

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas _ ABNT (NBR 6023).

Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções: no menu Formatar, escolha a opção Parágrafo... RECUo especial, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros vêm seguidos de et al. As iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico.

Indica(m)-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ).

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

Livros e capítulos de livro

LINDHAL, I.L. Nutrición y alimentación de las cabras. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **Fisiologia digestiva y nutrición de los ruminantes**. 3.ed. Zaragoza: Acríbia, 1974. p.425-434.

NEWMANN, A.L.; SNAPP, R.R. **Beef cattle**. 7.ed. New York: John Wiley, 1997. 883p.

Teses e dissertações

Castro, F.B. **Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989. 123p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989.

Boletins e relatórios

BOWMAN, V.A. **Palatability of animal, vegetable and blended fats by equine**. (S.L.): Virgínia Polytechnic Institute and State University, 1979. p.133-141 (Research division report, 175).

Artigos

Restle, j.; Vaz, r.z.; Alves Filho, d.c. et al. Desempenho de vacas Charolês e Nelore desterneiradas aos três ou sete meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.499-507, 2001.

Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

CASACCIA, J.L.; PIRES, C.C.; RESTLE, J. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.468.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [1999] (CD-ROM).

Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

NGUYEN, T.H.N.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, T.N. et al. [2003]. Effect of drenching with cooking oil on performance of local yellow cattle fed rice straw and cassava foliage. **Livestock Research for Rural Development**, v.15, n.7, 2003. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/7/nhan157.htm>> Acesso em: 28/07/2005.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral en rumiantes**. Disponível em: <http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf> Acesso em: 12/10/02.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/97.