

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA RELACIÓN MACHO HEMBRA EN LA PUESTA NATURAL Y DOSIS DE 17- α -METILTESTOSTERONA EN LA REVERSIÓN SEXUAL DE TILAPIA-DEL-NILO (*Oreochromis niloticus*) LINAJE TAILANDÉS

Effects of males and females ratio in reproductive parameters and verifying the best dose of the hormone 17- α -methyltestosterone in sexual reversion of Nile tilapia (*oreochromis niloticus*) Thailand line

Logato¹ P. V. R.*, Murgas² L. D. S., de Souza F. O.³

1. Dep. de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras-MG, 37200.000 Brasil;
2. Dep. de Medicina Veterinaria; 3. EMATER-MG

* Autor de referencia: priscila@ufla.br

RESUMEN

Este experimento fue realizado en la Estación de Hidrobiología y Piscicultura de Furnas, localizada en São José da Barra estado de Minas Gerais en Brasil, con el objetivo de verificar la relación entre macho y hembra en la puesta natural y también verificar la dosis de la hormona 17- α -metiltestosterona en la reversión sexual, para adecuación de una metodología de manejo en la reproducción de tilapias. Se realizaron dos experimentos, el primero verificando la mejor relación entre machos y hembras (1:1; 1:1.4; 1:2; 1:3; 1:5), y los parámetros evaluados fueron: producción de huevos; número de puestas y porcentaje de eclosión. En el segundo experimento fue observada la dosis de la hormona 17-a-metiltestosterona, siendo constituido de cinco niveles de hormona, T-A 0 mg de hormona/Kg de pienso; T-B 30 mg de hormona/kg de pienso; T-C 60 mg de hormona/Kg de pienso; 90 mg de hormona/kg de pienso y 120 mg de hormona/kg de pienso y los parámetros evaluados fueron: porcentaje de machos sin tratamiento hormonal y porcentaje de machos después de tratamiento hormonal. En el primer experimento, la proporción de 1 macho para 1 hembra, fue la relación que más huevos produjo por hembra durante el experimento ($P < 0,05$), siendo considerada la mejor proporción. En el segundo experimento la dosis de 17-a-metiltestosterona igual o superior a 37,5 mg/Kg de pienso, ha producido una población de 100 % peces machos ($P < 0,01$), siendo considerada la mejor dosis.

Palabras clave: reversión sexual, reproducción, tilapia, 17- α -metiltestosterona

ABSTRACT

The experiment was conducted in the Furnas hydrobiology and pisciculture station situated in São José da Barra - Minas Gerais in Brasil with a view to verifying the best ratio between males and females and also ideal dose of 17- α -methyltestosterone, adjusting a management methodology in the reproduction of Nile tilapia fish. Two experiments were conducted, the first one verifying the best ratio between males and females (1:1; 1:1.4; 1:2; 1:3; 1:5) and the parameters evaluated were: eggs production; spawning number and hatching percentage. In the second experiment was observed the ideal dose of the hormone 17- α methyltestosterone, its being made up of five hormone level: treatment A with 0 mg of hormone/kg of ration, treatment B with 30 mg de hormone/kg of ration, treatment C with 60 mg of hormone/kg of ration, treatment D with 90 mg of hormone/kg of ration and treatment E with 120 mg of hormone/kg of ration and the parameters evaluated were: percentage of male without a hormonal treatment and percentage of males after hormonal treatment. In the first experiment, the ratio of one male to one female produced the highest number of eggs ($P < 0.05$). In the second experiment there were significant differences ($P < 0.01$) for dosage of 17- α -metilttestosterona equal or superior to 37.5 mg of hormone/kg of ration, which produced 100% of males.

Key words: sexual reversion, reproduction, tilapia, 17- α -methyltestosterone.

INTRODUCCIÓN

La tilapia del Nilo, es la especie de pez más cultivada en sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo en todo el mundo, su producción pasó de 300.000 t en 1984, para 800.880 t en 1996. Este aumento es fácilmente explicado, pues se trata de un pez con gran capacidad de adaptación que presenta elevada resistencia a enfermedades llegando al peso comercial con pequeño intervalo de tiempo. Además de esto es rústica, su carne tiene elevada aceptación en el mercado, acepta fácilmente la alimentación artificial y se reproduce en cautividad (Phelps y Cerezo, 1992). El linaje Tailandés de la tilapia que, además de todos estos atributos, posee como principales características la docilidad, factor importantísimo observado en la reproducción y, un mejor desempeño comparado con los otros linajes. En la mayoría de las especies de peces existentes en el mundo, la hembra presenta un mejor desempeño con relación al macho, pero sucede lo inverso con la tilapia. En la hembra la energía es utilizada para la reproducción y no para el crecimiento y, por ello, los machos crecen más que las hembras, llegando a alcanzar un peso de 30 a 50% mayor (Popma y Lovshin, 1994). La importancia del conocimiento de

índices reproductivos en la especie de pez con la cual estamos trabajando es tan necesaria como cualquier otro factor productivo. Es posible mejorar el desempeño de los reproductores usando la determinación de la relación entre macho y hembra e consecuentemente se obtiene una producción de huevos más efectiva, resultando, con esto, una mayor producción de larvas. La tilapia es una especie altamente prolifera siendo que una matriz es capaz de producir quincenalmente 3000 alevines en media. Esto hace difícil su control reproductivo, resultando en una superpoblación, lo que trae como consecuencia la falta de uniformidad y disminución de la ganancia de peso. La obtención de monosexo macho en peces es posible de ser realizada por: a) separación por sexo; la cual no es tan eficiente pues los errores en la separación de machos y hembras son inevitables; b) hibridación; que también se hace un método de difícil aplicación, pues necesita de reproductores de razas puras, lo que en la práctica es casi imposible; c) reversión sexual; siendo el mejor y más seguro método de obtención de peces machos. Este último consiste en el uso de hormonas andrógenas determinantes del sexo masculino que son administradas conjuntamente con el pienso. Aunque el método

de reversión sexual haya sido muy investigado, y demostrada estadísticamente su eficiencia, para el linaje tailandés, existen pocos trabajos en esta área. Además de esto, las condiciones climáticas, principalmente la temperatura influyen en el desarrollo y reproducción de los peces. El objetivo de este trabajo fue determinar la mejor relación entre machos y hembras, en la reproducción, y verificar cual es la dosis ideal de la hormona, 17- α -metiltestosterona en la reversión sexual de tilapias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó durante el periodo de 20 de enero a 21 de marzo de 2001, en las instalaciones de la Estación de Hidrobiología y Piscicultura de la Usina Hidroeléctrica de FURNAS, situada en el municipio de São José da Barra en el estado de Minas Gerais-Brasil.

Fueron realizados dos experimentos. El primer experimento (experimento 1), fue realizado con el fin de determinar el efecto de la relación macho/hembra que maximizase el desempeño reproductivo de la tilapia en puesta natural, y el segundo experimento (experimento 2), realizado para determinar la dosis mínima de la hormona androgénica 17- α - metiltestosterona en la reversión sexual de las tilapias.

El experimento 1 fue conducido en cuatro tanques de 200 m² y fondo de tierra, con profundidad media de 0.90 m y sistema individual de abastecimiento de agua, con tubo de PVC de 100 mm de diámetro, conectado a la entrada del agua. Los tanques fueron vaciados, desinfectados y limpios, posteriormente subdivididos en 5 parcelas o unidades experimentales, de 36 m² por medio de tela de polietileno de alta densidad con mallas de 13 x 13 mm, excluyendo la caja de colecta, totalizando 180 m² de área útil por tanque. Fueron utilizados 240 reproductores de tilapia, siendo 80 machos y 160 hembras con peso medio de 1.150 \pm 0.200 Kg y 0.850 \pm 0.150 Kg respectivamente, con la relación entre machos y hembras de 6X6; 5X7; 4X8; 3X9 y

2X10, durante un período experimental de 60 días. El número de machos y hembras colocados en cada parcela fue determinado de acuerdo con las relaciones macho/hembra preestablecidas por los siguientes tratamientos: A) relación de 1 macho para 1 hembra; B) relación de 1 macho para 1.4 hembras; C) relación de 1 macho para 2 hembras; D) relación de 1 macho para 3 hembras; E) relación de 1 macho para 5 hembras. Cada tratamiento fue repetido 4 veces, totalizando 20 parcelas. Durante el período experimental, los peces recibieron pienso comercial de manutención, cuya composición nutricional esta presentada en el cuadro 1. El pienso fue ofrecido dos veces al día, una a las 8:30 de la mañana y otra a las 15:30 de la tarde, a una tasa de 3% de la biomasa.

Cuadro 1. Composición del pienso comercial usado para alimentar los reproductores

NUTRIENTES	COMPOSICIÓN (%)
Calcio (Max)	1.8
Extracto Etéreo (Min)	2.5
Fósforo (Min)	0.6
Materia Fibrosa	10
Materia Mineral	12
Proteína Total	28
Humedad	13

Composición del suplemento mineral y vitamínico de la ración – por Kg de pienso: Vitamina A, 8.000 UI; Vitamina D3, 1500 UI; Vitamina E, 12 UI/kg; Vitamina K3, 0,7 mg; Vitamina B1, 1 mg; Vitamina B2, 4 mg; Vitamina B6, 2 mg; Vitamina B12, 7 mg; Niacina, 300 mg; Ac. Pantoténico, 120 mg; Ac. Fólico, 1,5 mg; Vitamina C, 60 mg; Zinco, 60 mg; Manganeso 65 mg; hierro, 60 mg; Cobre, 6,5 mg; Selenio, 0.15 mg; Colina 300 mg; Cobalto 0,09 mg; Pantotenato de Calcio 7 mg; Niacina 15 mg y Biotina 5 mg.

Para el análisis biométrico y colecta de huevos de las hembras en puesta, fueron realizados dos muestreos por semana con un muestreo en cada parcela, utilizándose una red de arrastro para contención y despesca, con el máximo de cuidado posible para evitar que las hembras

que realizaron la puesta no perdieran los huevos de la boca. Durante la despesca los peces fueron capturados y su boca fue vedada con auxilio de una toalla que, posteriormente era cuidadosamente retirada para verificación del contenido bucal, observándose la presencia o no de huevos. Las hembras con huevos en la boca fueron colocadas individualmente en baldes plásticos y transportadas al laboratorio de reproducción, donde se realizaba la retirada de los huevos y la evaluación biométrica de las hembras. Los huevos retirados fueron inmediatamente pesados, retirándose una muestra de 10% de su peso para el conteo de los mismos. Después de la evaluación biométrica, las hembras de primera puesta fueron marcadas con hilo colorido, en la base de la nadadera dorsal y colocadas en su respectiva unidad experimental.

El experimento fue realizado en delineamiento en bloques al acaso, con 5 tratamientos y 4 repeticiones, con cada tanque representando un bloque. Para el análisis estadístico de los datos, fue utilizado el programa SAEG (Sistema de Análisis estadísticos y Genéticos), desarrollado por la Universidad Federal de Viçosa-MG, Brasil en 2000. Se usó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = m + B_i + T_j + e_{ij}$$

En el cual:

Y_{ij} = Observación del tratamiento j en el bloque i

m = media general del experimento

B_i = efecto del bloque i , para $i = 1, 2, 3, 4$

T_j = efecto de la relación macho/hembra j , para $j = 1, 2, 3, 4, 5$

e_{ij} = error aleatorio asociado a cada observación, siendo el error NID (0; s_2).

El efecto de las relaciones macho/hembra fue desdoblado en componentes lineal, cuadrático y cúbico.

Fueron analizadas las siguientes características: número medio de huevos producidos por

hembra; número total medio de huevos producidos por tratamiento; porcentaje de hembras que realizaron la puesta y porcentaje de eclosión.

En el experimento 2, después de la eclosión de los huevos, fue colectada una muestra constituida de 342 larvas/reproductora, de las incubadoras y transportadas para 20 tanques con dimensiones de 0.61m x 0.74m x 0.23m, de ancho, largo e profundidad, respectivamente. Los tanques estaban localizados dentro del laboratorio de la Estación de Hidrobiología y Piscicultura de Furnas.

Siete días después de la eclosión e posteriormente a la absorción del saco vitelínico, las larvas recibieron cinco tratamientos durante 4 semanas. Los tratamientos fueron: Tratamiento A: 0 mg de hormona; B: 30 mg de hormona; C: 60 mg de hormona; D: 90 mg de hormona; E: 120 mg de hormona /Kg de pienso.

La temperatura del agua de los tanques fue controlada por un sistema de termostato accionando calentadores de 250 watts, siempre que la temperatura se encontraba a un valor abajo de 25°C. Este procedimiento era realizado con el objetivo de mantener la temperatura dentro de la faja recomendada por Shelton et al. (1981). Las temperaturas fueron medidas dos veces al día, a las 7:30 de la mañana y a las 15:30 de la tarde, hasta el final del experimento. Los tanques fueron preparados para retirada de heces, sobras de pienso y larvas eventualmente muertas. El pH y el oxígeno disuelto también fueron medidos dos veces al día con auxilio de una sonda de tipo Horiba. Las larvas recibieron el pienso padrón que está descrito en el cuadro 2, siendo este ofrecido en forma de harina cuatro veces al día (después de tomada de la temperatura del agua), en proporción de 10% del peso vivo de los peces. Al pienso fue adicionado la hormona androgénica 17- α -metiltestosterona. Para la adición de la hormona fue realizada una dilución en alcohol etílico P.A. (100%). La mezcla de la solución alcohol-hormona fue adicionada a los ingredientes secos para garantizar una buena distribución de la hormona, posteriormente, el

pienso con hormona permaneció en estufa (60° C), hasta quedar completamente seco.

Cuadro 2. Composición del pienso comercial usado en la reversión sexual

NUTRIENTES	COMPOSICIÓN
Proteína bruta (%)	56
Lípidos (%)	10
Ac. linolénico (%)	01
Energía digestible (kcal/kg)	3700
Calcio (%)	3.6
Fósforo disponible (%)	1.6
Carbohidrato (digestible/kg)	5-20
Fibra bruta (%)	04

Composición de suplemento mineral y vitamínico del pienso: Vitamina A, 20000 UI; Vitamina D3, 6400 UI; Vitamina E, 160 mg; Vitamina K3, 20 mg; Vitamina B1, 10 mg; Vitamina B2, 15 mg; Vitamina B6, 20 mg; Vitamina B12, 200 mg.; Niacina, 300 mg; Ac. Pantoténico, 120 mg; Ac. Fólico, 1,5 mg; Vitamina C, 500 mg; Inositol, 250 mg; Colina, 1800 mg; Manganeso, 30 mg; Zinc, 50 mg; Hierro, 40 mg; Cobre, 20 mg; Selenio, 0.4 mg; Yodo, 5 mg.

El análisis de las gónadas, fue realizado después del período experimental retirándose 15 alevines/tanque para el análisis microscópico.

El procesamiento histológico fue realizado en el Sector de Morfología del Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidad Federal de Lavras, de acuerdo con técnicas de rutina. Las láminas histológicas fueron analizadas con auxilio de un microscopio óptico binocular, en aumento de 40 veces. La caracterización del desarrollo ovocitárico o testicular, fue con base en la presencia y/o modificaciones de estructuras celulares y foliculares.

El experimento fue realizado en delineamiento enteramente al acaso, con 5 tratamientos y 4 repeticiones. Para el análisis estadístico, fue utilizado el programa SAEG (Sistema de Análisis estadísticos y Genéticos), desarrollado por la Universidad Federal de Viçosa-MG, Brasil en 2000. Se usó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = m + T_i + e_{ij}$$

En el cual:

Y_{ij} = Observación del tratamiento i en la repetición j

m = media general del experimento

T_i = efecto de la dosis de hormona 17- α -metiltestosterona i , para $i = 1,2,3,4,5$

e_{ij} = error aleatorio asociado a cada observación, siendo el error NID (0; σ^2), con $j = 1,2,3,4$.

El efecto de las relaciones macho/hembra fue desdoblado en componentes lineal, cuadrático, cúbico y modelo LRP- Linear Response Plateau.

Fue analizada la dosis de la hormona andrógeno 17- α -metiltestosterona, para el porcentaje de reversión sexual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1, se observó efecto lineal ($P < 0.05$) del número de hembras por macho sobre el número medio de huevos, por hembra, verificándose que el número medio de huevos por hembra disminuyó a medida que el número de hembras por macho aumentó. En el cuadro 3 y en el gráfico 1 son presentados los números medios de huevos por hembra (NHE), en cada tratamiento.

Cuadro 3. Número medio de huevos por hembra (NHE) durante el período experimental

RELACIÓN MACHO/HEMBA	NHE
1:1.0	3680 \pm 404.1
1:1.4	3269 \pm 344.6
1:2.0	3307 \pm 313.5
1:3.0	3109 \pm 411.9
1:5.0	3015 \pm 650.2

CV = 11.2%

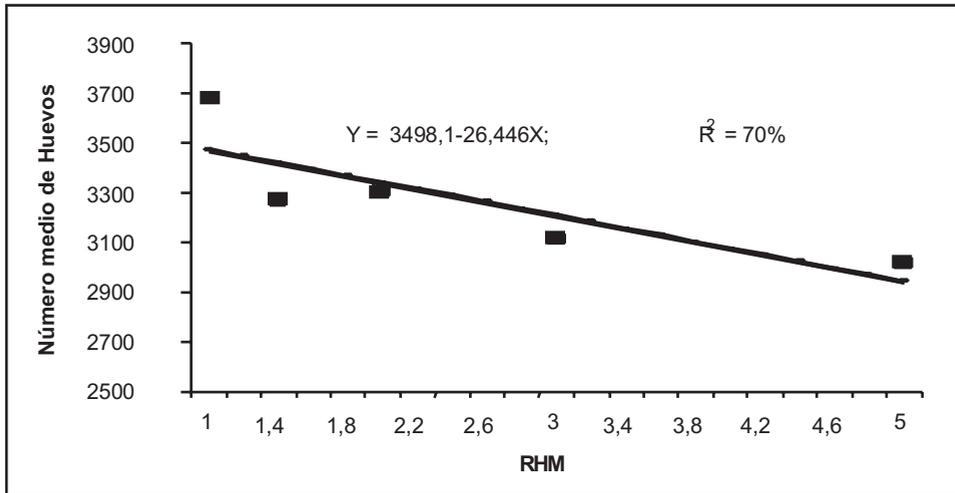


Gráfico 1. Número medio de huevos por hembra durante el experimento en función de la RHM (Relación hembra /macho).

La relación de un macho para una hembra fue la que mejor resultado presentó, durante el período experimental. Este hecho puede ser explicado en función de una mayor disponibilidad de machos para hembras, permitiendo un mayor número de huevos por hembra. El número medio de huevos por hembra fue reducido en función del aumento de hembras por macho, probablemente por reducción de la eficiencia de los machos.

Entretanto, no hubo efecto lineal ($P > 0.05$) del número de hembras por macho sobre la producción total de huevos, verificándose que la relación entre machos y hembras no alteró el número total de huevos producidos por hembra.

En el cuadro 4 son presentadas las medias de producción total de huevos (NTH) en cada tratamiento.

Los resultados de este trabajo, son superiores a los encontrados por Yancey (1982), quien describe que la tilapia produce en media 500 ovocitos por puesta, también superior a los descritos por Hephher y Prugynin (1981), quienes relatan en su trabajo que la tilapia produce cerca de 800 a 900 huevos. Según Galli (1981), la

Cuadro 4. Número total de huevos (NTH) en cada tratamiento durante el período experimental

RELACIÓN MACHO/HEMBRA	NTH
1: 1.0	34687 ± 13551
1: 1.4	32641 ± 3794
1: 2.0	41749 ± 8658
1: 3.0	40395 ± 8723
1: 5.0	38931 ± 10191

CV = 24.9%.

tilapia produce por puesta 100 a 500 alevines, dependiendo del tamaño de la matriz. Probablemente la causa de superioridad para este parámetro, observada en este trabajo, sea relacionada con el material genético utilizado, o sea la pureza genética es un factor importante sobre la reproducción para esta especie. Otro aspecto que posiblemente estaría influenciando el resultado, es con relación al peso de las matrices ya que en este experimento fueron utilizadas matrices bastante desarrolladas.

No se observó efecto lineal ($P>0.05$) del número de hembras por macho sobre el número de puestas, verificándose que el número de puestas no presentó interferencia con las diferentes proporciones utilizadas entre los reproductores.

En el cuadro 5 se presentan las medias del número de puestas por hembra (NPH) durante el período experimental y la relación entre machos y hembras, en cada tratamiento.

Cuadro 5. Número medio de puestas por hembra (NPH) durante el período experimental

RELACIÓN MACHO/HEMBRAS	NPH
1: 1.0	1.54 ± 0.45
1: 1.4	1.42 ± 0.11
1: 2.0	1.59 ± 0.37
1: 3.0	1.47 ± 0.41
1: 5.0	1.30 ± 0.21

CV = 18.3%.

Las relaciones de un macho/dos hembras y un macho/una hembra fueron las que presentaron mejores resultados en la media del número de puestas por hembra durante el período experimental, aunque no hayan sido diferenciado significativamente de los otros tratamientos, entretanto, podemos observar que la proporción intermedia entre los dos tratamientos citados anteriormente, o sea la relación de un macho para 1.4 hembras no presentó el resultado esperado, y por ello no se observa la diferencia significativa entre la relación macho y hembra y el número de puestas. A diferencia de otros autores, Popma (1987); Borges (1999); Zimmermann (1999), los cuales recomiendan menores relaciones entre reproductores para una mejor efectividad en la reproducción.

No se observó efecto lineal ($P>0.05$) del número de hembras por macho sobre la tasa media de eclosión, verificándose que el porcen-

taje de eclosión no presentó interferencia con relación a las diferentes proporciones utilizadas entre los reproductores.

En el cuadro 6 está presentada la tasa media de eclosión (ECLO) en cada tratamiento.

Cuadro 6. Tasa media de eclosión (ECLO) durante el período experimental

RELACIÓN MACHO/HEMBRA	ECLO
1: 1.0	78.33 ± 8.19
1: 1.4	82.43 ± 5.99
1: 2.0	80.96 ± 18.17
1: 3.0	84.69 ± 15.53
1: 5.0	83.35 ± 13.59

CV = 17.3%.

La tasa media de eclosión fue de 85%, considerada una alta tasa cuando se compara con otras especies de peces. Esta eclosión no está relacionada con la relación entre machos y hembras, estando en función del tipo de la incubadora utilizada en la incubación artificial, una vez que en este experimento fueron utilizadas incubadoras de fibra de vidrio, tipo embudo. Los resultados encontrados en este experimento son superiores a los de Woynarovich Y Horvath (1983), los cuales han reportado una tasa de eclosión de 35 a 45%, para peces tropicales.

En el experimento 2, fue constatado efecto lineal ($P<0.01$) de la dosis de hormona andrógeno 17- α -metiltestosterona y el porcentaje de alevines machos, entretanto el modelo estadístico que más se encuadró al resultado fue el modelo descontínuo LRP- Linear Response Plateau, observándose que el porcentaje de alevines revertidos esta relacionado con la dosis de hormona utilizado en la reversión sexual en tilapias.

En el cuadro 7 y en el gráfico 2 se muestra el porcentaje de peces machos (PMACH) en cada tratamiento.

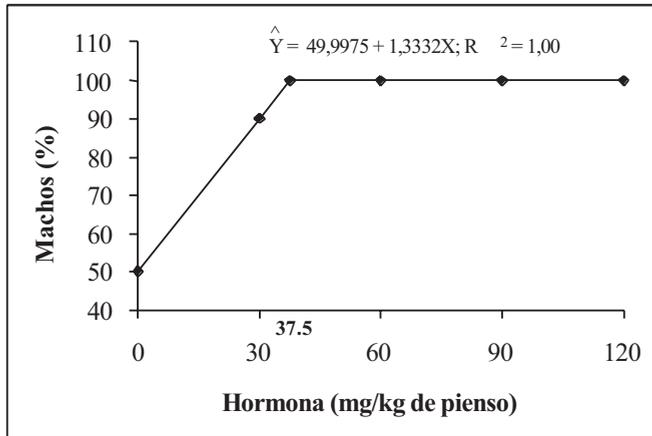


Gráfico 2. Proporción de machos y dosis de la hormona 17- α -metiltestosterona.

Cuadro 7. Porcentajes de machos después de tratamiento hormonal (PMACH) durante el período experimental

Dosis de hormona (mg/Kg pienso)	PMACH
0	50.00 \pm 12.76
30	90.00 \pm 3.84
60	100.00
90	100.00
120	100.00

CV = 6.8%.

La dosis igual o superior a 60 mg de hormona /Kg de pienso fue capaz de producir una población de 100% peces machos.

La mejor dosis de hormona encontrada por el análisis LRP, fue de 37.5 mg/ kg de pienso, con resultado bastante significativo, comparado con los otros tratamientos. Este resultado comprueba la efectividad de la hormona andrógeno 17- α -metiltestosterona, obteniéndose una población monosexo, o sea una prole 100% macho. Entretanto, Guerrero (1975); Obi y Shelton (1983); Carvalho et al. (1983), utilizaron una dosis menor (30 mg/kg de pienso), obteniendo resultados semejantes, o sea, 100% de peces

machos. Otros autores, Tayamen y Shelton (1978); Popma (1987), describen que con la dosis de 60 mg/kg de pienso se obtiene una prole de 100% machos, cuando las larvas son tratadas por 30 días y con dosis de 30 mg/kg de pienso, cuando las larvas reciben tratamientos por un período de 59 días, diferenciando de Guerrero (1975); Obi y Shelton (1983) e Carvalho et al. (1983), que utilizaron el tratamiento por un período de 30 días. Probablemente la diferencia entre los resultados obtenidos por otros investigadores y los encontrados, en este trabajo, pueda estar en las condiciones físicas, como por ejemplo la temperatura. Este factor fue controlado en este experimento.

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que la relación de 1 hembra para 1 macho es la mejor relación entre reproductores de tilapia en puesta natural y que la dosis de la hormona andrógeno 17- α -metiltestosterona ejerce influencia directamente en el porcentaje de alevines machos siendo que la dosis de 37.5 mg de hormona / Kg de pienso es considerada la mejor a ser utilizada en la reversión sexual de esta especie de pez.

BIBLIOGRAFÍA

- Borges, A. M. 1999. Reversão Sexual em tilápias (Apostila).
- Carvalho, E.D.; Foresti, F.; Barbieri G.; Martins, M.A. 1983. Efeitos do tratamento com 17 alfa metiltestosterona em *S. niloticus*; Freqüência de machos e crescimento. Anais III Simp. Bras. Aquic., S. Carlos, 74pp.
- Galli, L.F. 1981. Introdução à Piscicultura. Fundação Cargil, São Paulo, 77 pp.
- Guerrero, R.D. 1975. Use of androgens for the production of all-male tilapia-aurea. Trans. Am. Fish. Soc, Alabama, v.104, p.342-348.
- Hepher, B.; Prugynin, Y. 1981. Commercial Fish Farming. 1ª ed. New York, Wiley & Sons, Inc., 251 pp.
- Obi, A.; Shelton, W.L. Androgen and estrogen sex reversal in *Tilapia hornorum*. International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Nazareth, Israel, 117p.
- Phelps, R.P., Cerezo, G. 1992. The effect of confinement in hapas on sex reversal and growth of *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Acuac, v.1. n.4, p.73-81.
- Popma T.J.; Lovshin, L.L. 1994. Worldwide prospects for commercial production of tilápia. Alabama: International Center for Aquaculture and Environments-Auburn University.
- Popma, T.J. 1987. Freshwater fish culture development project, final technical report. Auburn University/U. of Florida/USAID technical assistance contract.
- Shelton, W.L.; Guerrero, D.R.; Macias, J. L. 1981. Factors affecting androgen sex reversal of tilapia aurea. Aquaculture. v.25, p.59-65.
- Tayamen, M.M.; Shelto, W.L. 1978. Inducement of sex reversal. in *S. niloticus*. Aquaculture. v.14, p.349-354.
- Woynarovich, E; Horvath, L.A. 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: Manual de extensão. Tradução de Vera Lucia Mixtro Chama. Brasília. FAO/ CODEVASF/CNPq. 220pp.
- Yancey, D.R. 1982. Manual de Criação de Peixes. Fundação Cargil, São Paulo, 110p. (Apostila).
- Zimmermann, S. 1999. Incubação Artificial: Técnica permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores. Panorama da Aqüicultura. Rio de Janeiro, Julho/Agosto, n.54, p.15-21.

