



Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas

Reproduction control in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) by sexual and chromosome set manipulation

E.M. Turra^{1,4}, D.A.A. Oliveira², E.A. Teixeira¹, R.K. Luz¹, S.A. Prado¹, D.C. Melo¹,
P.M.C. Faria¹, A.B. Sousa³

¹Lab. de Aquacultura, Dep. de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte MG, 30123-970, Brasil.

²Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte MG, 30123-970, Brasil.

³COLTEC, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte MG, 30123-970, Brasil.

⁴Correspondência: eduardoturra@yahoo.com.br

Resumo

O cultivo de populações monossexo ou estéreis de tilápia é necessário, uma vez que a reprodução destes animais durante o cultivo provoca gastos energéticos e menor desempenho somático. A sexagem manual e a produção de progênie 100% macho a partir do acasalamento entre *Oreochromis niloticus* e *O. hornorum* são técnicas difíceis. A produção de progênie monossexo macho, filhos de supermachos YY, apresenta-se como técnica de manipulação sexual promissora. Porém, a inversão sexual com o uso de hormônios para a formação de população monossexo ainda é o método mais utilizado. A formação de lotes estéreis triploides por meio de manipulações cromossômicas também é uma opção a ser desenvolvida.

Palavras-chave: tilápia, reprodução, monossexo.

Abstract

The culture of monosex or sterile Nile tilapia is necessary. The allocation of energy to reproduction during its culture leads to performance reduction. The hand sorting and monosex progeny produced by interspecific hybridization (Oreochromis niloticus and O. hornorum cross) are difficult methods. The production of all male progeny from YY supermales shows good promise technique. However, sex-reversal by hormone treatment is the best option yet. A sterile triploid stock through chromosome set manipulation is also an alternative to be developed.

Keywords: tilapia, reproduction, monosex

Introdução

Um dos peixes mais cultivados no mundo é a tilápia (*Oreochromis sp.*). Sua produção mundial já ultrapassou 2 milhões de toneladas, tendo sido a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) responsável pela oferta de 1,7 milhão de toneladas em 2005. O Brasil foi o 6º maior produtor de tilápia cultivada no mundo neste ano, aumentando sua produção de 35, em 2001, para 68 mil toneladas, em 2005 (Kubitza, 2007).

A espécie *O. niloticus* é a mais utilizada nos cultivos comerciais. Isto se deve a sua rusticidade, ao rápido crescimento, à carne de ótima qualidade e à boa aceitação no mercado consumidor. Por sua vez, características reprodutivas que contribuem para programas de melhoramento genético, como alta prolificidade, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa elevada e desova frequente (parcelada), são entraves a serem enfrentados pelos piscicultores na engorda (Popma e Green, 1990). A tilápia atinge a maturidade sexual com um peso próximo a 40 g (muitas vezes em menos de seis meses), antes de atingir o peso comercial (± 500 g). Esta característica pode provocar superpopulação (Mair et al., 1995), estender o tempo de engorda, aumentar a variação de peso do lote na despesa, reduzir a parcela de animais com peso comercial (Arai, 2001; Beardmore et al., 2001) e promover maior gasto com a alimentação, o maior custo variável da produção (Herbst, 2002). Desta forma, o controle reprodutivo é um dos maiores desafios na tilapicultura.

Neste sentido, pesquisas vêm sendo realizadas para desenvolver técnicas de prevenção de desovas de tilápias. A prática mais utilizada é a criação de populações monossexo de machos, uma vez que estes apresentam melhor desempenho zootécnico que as fêmeas (Phelps e Popma, 2000; Herbst, 2002). Estas populações podem ser obtidas por meio da sexagem manual, hibridização, inversão sexual ou pelo uso de reprodutores supermacho (YY). À exceção da sexagem manual, as técnicas citadas são consideradas como manipulações sexuais (Hulata, 2001).

Nos últimos anos, a produção de lotes estéreis de tilápias por meio da manipulação cromossômica também tem recebido particular atenção (Arai, 2001; Hulata, 2001; Herbst, 2002; Le Comber e Smith, 2004;



Pechsiri e Yakupitiyage, 2005; Piferrer et al., 2009).

O objetivo deste artigo é apresentar uma revisão sobre técnicas de controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*O. niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas.

Determinação e diferenciação sexual

Segundo Piferrer (2001), os peixes podem ser classificados como: gonocóricos (os sexos ocorrem separadamente nos indivíduos), hermafroditas (ambos os sexos estão presentes no mesmo indivíduo) e unissexuados (espécies em que ocorre apenas o sexo feminino ou apenas o masculino). De acordo com Borges (2004), as espécies gonocóricas podem ser indiferenciadas ou diferenciadas. Nas indiferenciadas, a gônada primordial inicia o desenvolvimento assemelhando-se a um ovário e, depois, parte dos indivíduos torna-se macho, e a outra parte fêmea. Nas diferenciadas, caso das tilápias do Nilo (Lundstedt et al., 1997; Beardmore et al., 2001), a gônada diferencia-se em um testículo ou em um ovário desde o princípio.

A determinação sexual em peixes pode ser de três tipos: cromossômica, poligênica e interação genótipo-ambiente (Piferrer, 2001). A primeira é caracterizada pela presença de cromossomos sexuais que comportam a maior parte dos genes responsáveis pela determinação do sexo. Poucas espécies de peixes, mesmo os gonocóricos, apresentam este tipo de determinação (Beardmore et al., 2001). Das que apresentam, como a tilápia do Nilo, o sistema mais comum é o XX/XY. Outras espécies de tilápias, apesar da proximidade filogenética, como a *Oreochromis hornorum* e a *O. aureus*, têm seus sexos determinados pelo sistema ZZ/ZW. Nestas espécies, o sexo heterogamético é a fêmea (ZW), e não o macho (ZZ), assim como acontece no sistema anterior. A diversidade entre as espécies de peixe é tão grande que outros seis sistemas de cromossomos sexuais já foram propostos, inclusive com mais de dois cromossomos sexuais envolvidos (Piferrer, 2001).

Na determinação sexual poligênica, não existem cromossomos sexuais que comportam os genes ou o gene de importância na definição do sexo, e sim um número indeterminado de genes espalhados em cromossomos autossômicos (Piferrer, 2001). A espécie surubim *Pseudoplatystoma coruscans* é uma representante desse grupo. Aparentemente, na tilápia do Nilo, genes autossômicos também devem contribuir para a determinação sexual provocando proporções entre sexos nas progêneses significativamente desviantes da esperada 1:1 (Ezaz et al., 2004; Desprez et al., 2006).

Quando o sexo é determinado por uma interação genótipo-ambiente, diferentes temperaturas, fotoperíodos, salinidades e densidades de estocagem podem definir o sexo da prole no momento da incubação dos ovos e larvicultura, mesmo já existindo uma composição genética indicativa (Piferrer, 2001; Borges, 2004).

Na tilápia do Nilo, a transformação do sexo genotípico em sexo fenotípico é acompanhada por processos bioquímicos, que são susceptíveis a fatores ambientais (Chan e Yeung, 1983). Segundo Fostier et al. (1983), nas primeiras fases de desenvolvimento embrionário, as células germinais (oogônia e espermatogônia) não possuem clara distinção morfológica. Estudos mostram que as células germinais mantêm bipotencialidade durante o período de diferenciação e podem ser influenciadas por hormônios esteróides e/ou fator ambiental como a temperatura da água. Este período segue até 16 dias após a eclosão em tilápias de várias espécies (Nakamura e Takahashi, 1973; Yoshikawa e Oguri, 1977). Valendo-se disso, é prática comum controlar o sexo fisiológico desses peixes por meio da adição de hormônios específicos na sua dieta ou na água em que vivem (Mair et al., 1995; Piferrer, 2001; Beardmore et al., 2001; Borges, 2004), antes do início de sua diferenciação (Yamamoto, 1969).

Técnicas de controle reprodutivo

Com a intenção de maximizar a produção de tilápia do Nilo, técnicas para a obtenção de populações monossexo foram estudadas e implementadas em cultivos comerciais, algumas com sucesso, e outras não.

Sexagem

A presença da gônada masculina ou feminina é considerada como um dimorfismo sexual primário. Diferenças físicas externas entre os dois sexos podem existir ou não de acordo com a espécie de peixe. Se existirem, podem ser permanentes ou temporárias e são chamadas de dimorfismos sexuais secundários. As tilápias apresentam dimorfismo sexual secundário permanente, representado principalmente pela papila urogenital distinta entre os sexos (Borges, 2004), o que facilita a separação entre os indivíduos (Fig. 1). Na fêmea, a papila apresenta duas aberturas distintas, o orifício urinário e a saída do oviduto. Nos machos, existe somente uma abertura, que servirá para a liberação de sêmen e a excreção da urina.

Porém, a separação só pode ser feita de maneira mais precisa em indivíduos de peso próximo a 100 g. Logo, a sexagem manual de machos e fêmeas, executada no princípio da tilapicultura (Mair e Little, 1991), trouxe benefícios para produções pequenas e rudimentares, mas foi inviável financeiramente para produções em larga escala (Herbst, 2002).

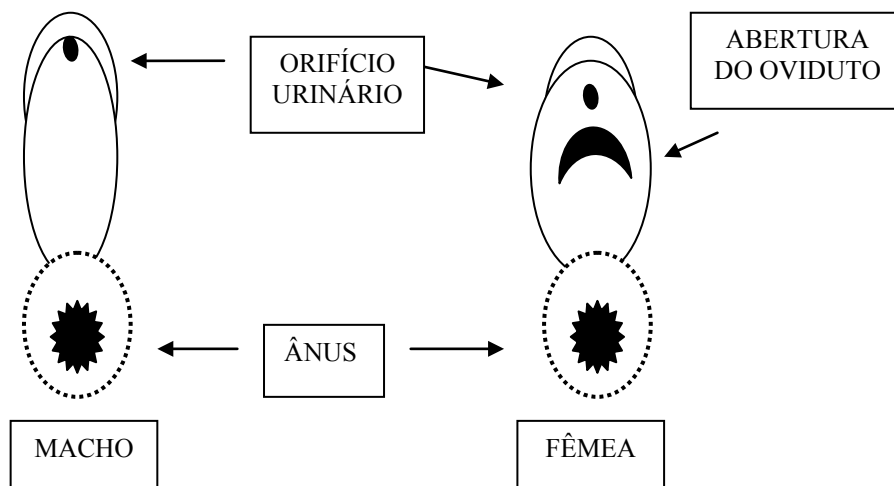


Figura 1. Desenho esquemático das papilas de machos e fêmeas de tilápia do Nilo.

Manipulação sexual

Hibridização

A existência de pelo menos dois sistemas cromossômicos de determinação de sexo nas espécies de tilápia permitiu o desenvolvimento da tecnologia da hibridização. Esta técnica possibilita a formação de progênie 100%, ou próximo, de machos (Wolfarth, 1994). O cruzamento de indivíduos fêmea XX (*Oreochromis niloticus*) com indivíduos macho ZZ (*O. hornorum* ou *O. aureus*) propiciou um avanço na tilapicultura (Beardmore et al., 2001). A progênie formada apresenta a combinação de cromossomos sexuais ZX, que resulta em fenótipo macho.

Países de invernos mais rigorosos, como Israel, foram beneficiados pelo uso da hibridização utilizando-se no cruzamento a espécie *O. aureus* (Hulata et al., 1993). A tolerância desta espécie ao frio contribuiu para uma melhor adaptação do híbrido às condições de cultivo locais (Hulata et al., 1993; Beardmore et al., 2001; Hulata, 2001).

Infelizmente, a produção de progênie 100% macho por meio desta técnica não é sempre possível. As proporções de machos a partir destes cruzamentos são inúmeras (Beardmore, 2001; Hulata, 2001), variando de 58 a 100% (Hulata et al., 1993), o que reduz sua aplicação em grande escala. A dificuldade de manutenção de estoques de reprodutores puros destas espécies, principalmente em condições de campo, conjugada com a possível existência de genes autossômicos epistáticos envolvidos na determinação sexual, além da influência de fatores ambientais, devem ser as principais causas da ocorrência de progênies com ambos os sexos (Herbst, 2002).

Inversão sexual

Atualmente, a formação de populações monossexo por meio da inversão sexual, ou comumente chamada de reversão sexual, é o método que melhor tem atendido à cadeia produtiva da tilapicultura no mundo, pela sua efetividade e praticidade (Lundstedt et al., 1997). Esta técnica consiste na administração de hormônios esteróides sexuais sintéticos, como a 17- α -metiltestosterona e o 17- β -estradiol, por meio da dieta, às larvas antes de sua diferenciação gonadal (Herbst, 2002; Desprez et al., 2003; Desprez et al., 2006). O hormônio também pode ser utilizado em banhos de imersão de curta duração (cerca de três horas; Gale et al., 1999; Wassermann e Afonso, 2003; Bombardelli e Hayashi, 2005).

O protocolo mais utilizado é o uso do hormônio esteróide 17- α -metiltestosterona adicionado à dieta em dosagens de 30 a 60 mg/Kg de ração, durante 21 a 28 dias de alimentação (Bombardelli e Hayashi, 2005). Processos bem conduzidos garantem índices de masculinização dos lotes em torno de 98% (Popma e Green, 1990).

Contudo, vários fatores ambientais, como qualidade de água, frequência de arraçoamento, qualidade do hormônio, forma de sua incorporação na ração e a idade da larva, podem determinar uma redução significativa na eficiência desse processo (Popma e Green, 1990). Sequências de erros podem reduzir os índices de masculinização para 80% (Lundstedt et al. 1997) e, como consequência, haverá redução da eficiência zootécnica e econômica do lote. Além disso, a escassez de informação sobre possíveis impactos ambientais de resíduos dos hormônios (Desprez et al., 2006) e o uso desse tipo de produto em animais com destino ao consumo humano geram discussões e possíveis rejeições a ele (Herbst, 2002; Desprez et al., 2003; Borges, 2004).



Formação de reprodutores supermachos (YY)

Embora na diferenciação sexual de tilápias do Nilo, como já dito, o(s) efeito(s) epistático(s) de gene(s) autossômico(s) e fatores ambientais tenham importância, a determinação cromossômica é ponto preponderante (Mair et al., 1991). Em tese, reprodutores machos com a combinação cromossômica sexual YY, chamados de supermachos, se acasalados com fêmeas normais XX, produziram progênie 100% macho sem a necessidade de administração de hormônios esteroides. A pesquisa e a produção massificada desses reprodutores foram objetivos de alguns pesquisadores (Mair et al., 1995; Beardmore et al., 2001).

Segundo Beardmore et al. (2001), a obtenção de peixes machos YY é laboriosa e demorada. A primeira etapa consiste na feminilização de larvas indiferenciadas para produzir fêmeas fenotípicas XY (neofêmeas), utilizando-se o hormônio 17- β -estradiol. Estas são separadas de fêmeas normais XX por teste de progênie. As neofêmeas produzidas são acasaladas com machos normais XY, gerando 25% da progênie com a combinação YY. Por teste de progênie, estes supermachos são identificados e separados. Os machos YY seriam cruzados com fêmeas normais XX para produção de progênie 100% XY.

Para maximizar a produção de reprodutores YY, reduzindo custos e possibilitando a comercialização desses animais para um maior número de unidades de reprodução comerciais, os referidos autores sugerem mais uma etapa importante: a feminilização de larvas resultantes do acasalamento de macho YY com neofêmea XY. Desta forma, 50% das neofêmeas produzidas seriam YY. Estas seriam acasaladas com machos YY, produzindo somente indivíduos machos YY para sua comercialização.

Mair et al. (1995) encontraram resultados interessantes em dois ensaios diferentes no cultivo de indivíduos XY, filhos de pais YY, frente a indivíduos revertidos sexualmente. Os filhos de supermachos foram melhores para ganho de peso no primeiro ensaio, apesar de não terem apresentado diferenças significativas com os animais revertidos no segundo. Essa resposta mostra a possibilidade de o uso do reprodutor supermacho não ser somente uma alternativa na produção de população monossexo, mas também uma técnica para formação de lotes de melhor desempenho zootécnico.

Apesar da importância do sistema cromossômico na determinação do sexo da tilápia do Nilo, o efeito de gene autossômico pode ser notado. Mair et al. (1995) obtiveram 99% de machos na progênie de reprodutores YY, e citam o trabalho de Mair et al. (1993) em que os resultados variaram de 67-100% de machos (média de 96,5%). Essa possibilidade de um percentual de fêmeas resultantes seria um fato desabonador para o uso da técnica. Porém, vale ressaltar que as fêmeas YY produzidas não apresentaram maturação gonadal, resultado interessante e resposta possível para a superioridade dos filhos de pais YY frente aos animais revertidos neste experimento.

Para a garantia de um percentual alto de machos em progênie de pais YY, Beardmore et al. (2001) sugerem a necessidade de um programa de seleção que aumente a frequência alélica na população trabalhada do(s) gene(s) autossômico(s) que contribui(em) para a determinação de machos.

A tecnologia de supermachos é bastante promissora na tilapicultura. Contudo, a necessidade de esforços e tempo para a formação de supermachos pode levar a um aumento de custos e *gap* genético. Evitar o uso de hormônios esteróides no produto comercial pode se tornar uma grande vantagem de mercado para essa metodologia. Como alternativa para a obtenção de supermachos, mais adiante será detalhada a androgênese.

Manipulação cromossômica

Uma alternativa à produção de populações monossexo para controle reprodutivo em tilápias do Nilo seria a esterilização de lotes. Nesse caso, machos e fêmeas estéreis seriam cultivados juntos, mas não deslocariam energia para a reprodução, e sim para o crescimento somático. O desempenho desses lotes poderia ser satisfatório mesmo com a presença de fêmeas.

A esterilização de lotes de tilápia do Nilo pode ser alcançada por meio de técnicas de manipulação cromossômica, formando-se indivíduos poliploides triploides. Indivíduos poliploides são aqueles que possuem um número de cromossomos múltiplo de seu conjunto base haploide. Segundo Hulata (2001), a produção de poliploides vem sendo descrita em várias espécies de salmonídeos, carpas, tilápias, pacus e tambaquis, com bons resultados em relação à taxa de poliploidia e sobrevivência.

A manipulação dos conjuntos cromossômicos em peixes é praticável devido à facilidade com que os gametas desses animais podem ser manipulados e fertilizados artificialmente (Oliveira, 1999). Comparativamente aos vertebrados superiores, os peixes possuem um sistema biológico menos especializado que permite certas manipulações impraticáveis em mamíferos e aves. Algumas dessas facilidades são: fecundação externa, alta fecundidade, diferenciação sexual controlável e intervalo entre gerações curto (Tsukamoto e Rigolino, 1993).

Triploidia

A triploidia é um tipo de poliploidia em que os organismos possuem três conjuntos cromossômicos



base. É a técnica de manipulação cromossômica mais utilizada na piscicultura. Arai (2001) cita a importância econômica da produção de alevinos triploides de ciprinídeos e salmonídeos comercializados no Japão. O autor comenta, ainda, a significativa importância do comércio de triploides nos EUA, principalmente com salmonídeos e “catfish” (*Ictalurus punctatus*).

O interesse no uso de triploides em peixes deve-se não só à expectativa da esterilidade, como também à característica de maior peso e comprimento em relação aos animais diploides (Le Comber e Smith, 2004). Sob o aspecto teórico, espera-se que os triploides sejam estéreis pela divisão meiótica irregular e consequente formação de gametas aneuploides (Tiwary et al., 2004). Esta esterilidade evitaria o gasto energético com desenvolvimento de gônadas normais, coorte, reprodução e cuidados com a prole, além de as células conterem 33% mais informação genética para o crescimento (Melo et al., 2006).

Em salmonídeos, tem-se verificado que diploides e triploides crescem igualmente até o início da idade da primeira maturação. Durante o período de maturação sexual, os diploides de ambos os sexos sofrem uma redução no crescimento devido ao desenvolvimento das gônadas. Entretanto, as fêmeas estéreis triploides continuam aumentando em peso e comprimento e superam as fêmeas diploides em 5 a 20% ao final do período de maturação. De fato, as fêmeas triploides apresentam somente gônadas residuais e níveis de hormônios sexuais semelhantes aos das diploides jovens. Ao contrário, machos triploides apresentam desenvolvimento gonadal, níveis de hormônios sexuais semelhantes aos dos diploides adultos, características sexuais secundárias e comportamento de coorte, ocasionando desempenho similar aos diploides. Estes machos triploides também produzem quantidade limitada de sêmen bastante fluido, com poucos espermatozoides móveis que, quando empregados em fecundações artificiais, produzem abortos precoces sugerindo ser pouco provável que estes venham a produzir descendência normal e fértil (Tabata et al., 2000; Lee e Donaldson, 2001).

Tilápias do Nilo triploides se mostram funcionalmente estéreis (Hussain et al., 1991) como salmonídeos. Quanto ao desempenho, Hussain et al. (1995) não encontraram diferenças em ganho de peso entre fêmeas triploides e diploides, nem entre os machos. Ao contrário, Brämick et al. (1995) demonstraram que machos e fêmeas triploides tiveram o mesmo desempenho para ganho de peso que diploides, até a maturação sexual. Porém, a partir deste momento, machos e fêmeas triploides apresentaram peso médio de 66 e 95% superior, ao final dos 285 dias de engorda, respectivamente.

Na comparação entre machos e fêmeas triploides e diploides invertidos, Pechsiri e Yakupitiyage (2005) não encontraram diferenças para ganho de peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica, composição corporal e sobrevivência.

Os resultados apresentados mostram a necessidade de mais estudos sobre o desempenho de triploides de tilápia do Nilo. Extrapolações a partir de outras espécies, mesmo de igual gênero, devem ser comedidas, uma vez que os resultados com o uso desses poliplóides são espécie-dependentes (Piferrer et al., 2009). Esses autores ressaltam que a maior parte das avaliações realizadas foi em escala laboratorial, e não comercial, e que interações tratamento x famílias não podem ser negligenciadas.

A produção de triploides pode ser realizada por dois métodos: o direto, por meio de choque externo (temperatura ou pressão), ou pelo método chamado de triploide interploide (Myers, 1986; El Gamal et al., 1999; Piferrer et al., 2009).

O método direto por meio de choques físicos é o mais explorado em pesquisas com tilápias e outros peixes (Hussain et al., 1995; Piferrer, 2001; Herbst, 2002; Tiwary et al., 2004; Piferrer et al., 2009). Ele consiste na retenção do segundo corpúsculo polar, logo após a fecundação do ovócito secundário, pelo espermatozoide (Tiwary et al., 2004). Isto formará um ovo com três conjuntos base de cromossomos. Mitoses sucessivas acontecem e o organismo se desenvolve com todas as células triploides.

A retenção do segundo corpúsculo polar pode acontecer por erro natural do processo de formação do ovo e indivíduos triploides podem surgir na natureza sem a intervenção humana (Le Comber e Smith, 2004; Tiwary et al., 2004; Piferrer et al., 2009). Mas, artificialmente, pode-se provocar o mesmo erro por meio de choque físico dos ovos recém-fecundados por alteração térmica ou de pressão hidrostática.

As metodologias por meio de choques de pressão são difíceis de serem executadas, por exigirem equipamentos específicos que comportam poucos ovos por vez, além de serem perigosas, mesmo em escala laboratorial (Herbst, 2002).

A metodologia mais empregada é a de choques térmicos pela sua facilidade de execução. Podem ser choques quentes ou frios. Em peixes tropicais, como a tilápia do Nilo, choques frios mostraram-se mais eficientes (Don, 1988). Porém, o contrário também foi registrado (El Gamal et al., 1999; Herbst, 2002). Em choques frios, as temperaturas variam de 9 a 13°C, e a duração é de 30 a 60 minutos de exposição. Em choques quentes, a temperatura variando de 40 a 42°C é mais usual, com durações de exposição de três a cinco minutos. Em ambos os tipos de metodologia, o processo é executado três a cinco minutos depois da fertilização dos ovócitos secundários, sendo considerados como choques precoces.

Apesar de poder produzir lotes com alta porcentagem de indivíduos triploides, a metodologia do choque direto em ovos não é normalmente 100% efetiva e resulta muitas vezes em indivíduos com baixa viabilidade e com outros efeitos deletérios (Myers, 1986; Lutz, 2001, citado por Herbst, 2002).

A temperatura em que os ovos recém-fecundados estão sendo mantidos antes do choque e a



homogeneidade do estágio de desenvolvimento dos ovócitos secundários extrusados parecem ser fatores importantes no resultado final (El Gamal et al., 1999; Herbst, 2002). Outro fator limitante ao sucesso desta técnica é a característica reprodutiva de desovas assíncronas (Bombardelli e Hayashi, 2005). Isto dificulta o processo de extrusão de ovócitos e sincronização das fêmeas, fato que torna a metodologia técnica e financeiramente inviável em larga escala (Piferrer et al., 2009).

O método triploide interploide, apesar de pouco explorado, é o mais promissor para a produção de indivíduos triploides. Este método consiste na utilização de reprodutores tetraploides em acasalamentos com diploides produzindo progênie triploide interploide. Tal alternativa evita os efeitos deletérios dos choques externos nos ovos, além da extrusão sistemática dos reprodutores.

O processo já se provou confiável em trutas arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Chourrout et al. 1986; Myers e Hershberger, 1990, citados por Herbst, 2002; Piferrer et al., 2009); porém, em tilápias do Nilo, ainda não existem relatos de linhas tetraploides vivas até a idade reprodutiva.

A obtenção de indivíduos tetraploides se dá por meio do choque físico, novamente térmico, hiperbárico, ou químico (colchicina), na primeira divisão mitótica do ovo, causando o rompimento dos fusos mitóticos e a manutenção do material genético duplicado na mesma célula. Esta volta a se dividir normalmente, formando um organismo tetraploide (Piferrer et al., 2009). Como na metodologia de formação direta de triploides, choques térmicos são mais fáceis de serem empregados. Porém, os choques são executados com pelo menos 30 minutos após a fertilização dos ovócitos para que o momento da primeira divisão mitótica possa ser alcançado. São chamados de choques tardios. El Gamal et al. (1999) sugerem dois choques como a metodologia mais eficiente, um aos 65 minutos e o outro aos 80 minutos pós-fecundação. O resultado obtido foi de 80% de tetraploides em tilápias do Nilo.

Contudo, a inexistência de divulgação nos meios científicos de linhas tetraploides vivas de tilápias do Nilo à idade de reprodução é reflexo claro da ineficiência dos processos já estudados, da fragilidade da espécie frente à agressividade dos choques (Carrillo e Romagosa, 2004), ou à condição tetraploide. Fazem-se mister maiores estudos para que um número mínimo de reprodutores possa ser formado e multiplicado para a manutenção de uma linhagem.

Uma vez conseguido este número mínimo para a perpetuação da linhagem, estudos devem ser feitos quanto à sua capacidade reprodutiva. Avaliações com trutas arco-íris mostram dois empecilhos para machos tetraploide: a dificuldade de formação de gametas por problemas na segregação dos cromossomos homólogos na meiose I, produzindo gametas aneuploides, e o grande tamanho da cabeça do espermatozoide diploide dificultando a fertilização do ovócito (Piferrer et al., 2009).

Androgênese

Outra alternativa para a formação de indivíduos machos YY é por meio da manipulação cromossômica chamada androgênese. Quando um zigoto é formado somente pelo material genético do espermatozoide, o processo chama-se androgenia (Arai, 2001), e o contrário ginogenia (Komen e Thorgaard, 2007).

O método mais comum de androgênese segue três etapas: (a) irradiação por ultravioleta de ovócitos secundários com a desnaturação de seu material genético; (b) fertilização destes ovócitos por espermatozoides; (c) choque físico (térmico ou hiperbárico) na primeira divisão mitótica deste ovo para retenção do material genético do espermatozoide, agora já duplicado (Pandian e Koteeswaran, 1998; Arai, 2001; Herbst, 2002; Komen e Thorgaard, 2007). O produto resultante possui 100% de homozigose.

O espermatozoide que terá seu material genético dobrado pode carregar um cromossomo Y ou X, resultando em animais YY (supermachos) ou XX, respectivamente. Estes são separados primeiramente por dimorfismo sexual secundário e, se necessário, teste de progênie, uma vez que machos fenotípicos podem ser XX pela ação de fatores ambientais ou genes autossômicos.

Como em outras manipulações cromossômicas, estudos já foram feitos principalmente em salmonídeos. Em tilápias do Nilo, as pesquisas ainda são escassas (Piferrer et al., 2009). Porém, independentemente da espécie, a sobrevivência em processos androgênicos e ginogênicos é baixa. Exemplo é o trabalho de Marengoni e Onoue (1998), no qual os pesquisadores obtiveram sobrevivência de apenas 1,6% para androgênicos de tilápia do Nilo. O percentual de homozigose dos indivíduos resultantes de ambos os processos é uma das explicações possíveis da baixa viabilidade (Pandian e Koteeswaran, 1998; Arai, 2001; Herbst, 2002; Komen e Thorgaard, 2007).

Manipulação combinada

Embora seja um estudo teórico, ainda não demonstrado em tilápias do Nilo, poder-se-iam produzir triploides YYY em um protocolo combinado de manipulação sexual e cromossômica. O objetivo seria o aproveitamento da condição estéril do triploide, somado ao desempenho superior do macho. Lotes com estas características poderiam ter melhor desempenho zootécnico e uma garantia maior de segurança ambiental devido a escapes em bacias hidrográficas onde a espécie fosse exótica.

Indivíduos com esta combinação cromossômica seriam formados a partir de protocolo com algumas etapas:



- feminilização de larvas indiferenciadas por meio da administração do hormônio 17- β -estradiol;
- identificação por teste de progênie das neofêmeas XY;
- feminilização de larvas indiferenciadas resultantes do acasalamento de neofêmeas XY e machos YY;
- identificação de neofêmeas YY por teste de progênie;
- choque tardio de ovos resultantes do acasalamento de machos YY e neofêmeas YY com a formação de tetraplóides YYYY;
- acasalamento entre indivíduos YYYY e neofêmeas YY produzindo triploides YYY.

É certo que vários entraves já discutidos devem ser superados para que a técnica possa ser efetivada. Além disso, pesa negativamente o fato de que seria um protocolo longo devido à necessidade de várias etapas. Contudo, as diversas possibilidades de manipulações em tilápias do Nilo permitem vastas idealizações.

Conclusões

O controle reprodutivo de tilápias do Nilo é de extrema necessidade e fundamental para a cadeia produtiva desta espécie. Evitar o uso de hormônios para a formação de população monossexo vem se tornando uma necessidade. A produção de supermachos YY apresenta-se como uma técnica de manipulação sexual promissora na tilapicultura. Em relação à manipulação cromossômica, a produção de lotes estéreis é uma alternativa a ser alcançada. Porém, a produção de triploides de tilápia do Nilo a partir de choques em ovócitos recém-fertilizados é inviável comercialmente, sendo sua produção a partir de acasalamentos de tetraploides e diploides uma alternativa.

Agradecimentos

Esta pesquisa é parte integrante de projeto financiado pelo CNPq (processo nº 478429/2008-8). Os autores desejam agradecer à CAPES, pelo financiamento de uma bolsa ao estudante de doutorado Eduardo Maldonado Turra.

Referências bibliográficas

- Arai K.** Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. *Aquaculture*, v.197, p.205-228, 2001.
- Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI.** Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems and prospects. *Aquaculture*, v.197, p.283-301, 2001.
- Bombardelli RA, Hayashi C.** Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com 17 α -metiltestosterona. *Rev Bras Zootec*, v.34, p.365-372, 2005.
- Borges AM.** Efeito da temperatura da água na produção de populações monossexo de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem chitralada. 2004. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília e Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, 2004.
- Brämick U, Puckhaber B, Langholz HJ, Hijstgen-Schwark G.** Testing of triploid Tilapia (*Oreochromis niloticus*) under tropical pond conditions. *Aquaculture*, v.137, p.343-353, 1995.
- Carrillo MA, Romagosa E.** Efeito do choque térmico quente em ovos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*): tempo pós-fertilização e duração do processo na sobrevivência das larvas. *Bol Inst Pesca*, v.31, p.55-64, 2004.
- Chan STH, Yeung WSB.** Sex control and reversal in fish under natural conditions. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (Ed. *Fish physiology*: IX. San Diego, CA: Academic Press, 1983. p.171-220.
- Desprez D, Cédric B, Hoareau MC, Mélard C, Bosc P, Baroiller JF.** Study of sex ratio in progeny of a complex *Oreochromis* hybrid, the Florida red tilapia. *Aquaculture*, v.251, p.231-237, 2006.
- Desprez D, Géraz E, Hoareau MC, Mélard C, Bosc P, Baroiller JF.** Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11 α -hydroxyandrostenedione (11hOHA4), in Florida red tilapia. *Aquaculture*, v.216, p.55-65, 2003.
- Don J.** Comparative study on the induction of triploidy in tilapias, using cold- and heat-shock techniques. *J Fish Biol*, v.32, p.665-672, 1988.
- El Gamal AA, Davis KB, Jenkins JA, Les Torrains E.** Induction of triploidy and tetraploidy in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *J World Aquacult Soc*, v.30, p.269-275, 1999.
- Ezaz MT, Myers JM, Powell SF, McAndrew BJ, Penman DJ.** Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, v.232, p.205-214, 2004.
- Fostier A, Jalabert R, Billard R, Breton B, Zohar Y.** The gonadal steroids. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (Ed.). *Fish physiology*: IX. San Diego, CA: Academic Press, 1983. p.277-371.
- Gale WL, Fitzpatrick MS, Lucero M, Contreras-Sanches WM, Schreck CB.** Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture*, v.178, p.349-357, 1999.
- Herbst EC.** Induction of tetraploidy in zebrafish *danio rerio* and Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. 2002. 127f.



Thesis (MSc) - University of North Carolina at Charlotte, NC, 2002.

Hulata G. Genetic manipulations in aquaculture, a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genetica*, v.111, p.155-173, 2001.

Hulata G, Wohlfarth GW, Karplus I, Schroeder GL, Harpaz S, Halevy A, Rothbard S, Cohen S, Israel I, Kavessa M. Evaluation of *Oreochromis niloticus* × *O. Aureus* hybrid progeny of different geographical isolates, reared under varying management regimes. *Aquaculture*, v.115, p.253-271, 1993.

Hussain MG, Chatterji B, McAndrew BJ, Johnstone R. Triploidy induction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theor Appl Genet*, v.81, p.6-12, 1991.

Hussain MG, Rao GPS, Humayun NM, Randall CF, Penman DJ, Kime D, Bromage JM, Myers JM, McAndrew BJ. Comparative performance of growth, biochemical composition and endocrine profiles in diploid and triploid tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, v.138, p.87-97, 1995.

Komen H, Thorgaard GH. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: a review. *Aquaculture*, v.269, p.150-173, 2007.

Kubitza F. A produção de pescado no mundo e a aqüicultura. *Panor Aqüicult*, mar/abr, p.17, 2007.

Le Comber SC, Smith C. Biological relevance of polyploidy: ecology to genomics. *Biol J Linnean Soc*, v.82, p.431-442, 2004.

Lee C-S, Donaldson EM. General discussion on reproductive biotechnology in finfish aquaculture. *Aquaculture*, v.193, p.303-320, 2001.

Lundstedt LM, Leonhardt JH, Dias AL. Alterações morfológicas induzidas pela reversão sexual em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Rev UNIMAR*, v.19, p.461-472, 1997.

Mair GC, Abucay JS, Beardmore JA, Skibinski DOF. Sex determination in the genus *Oreochromis*: 1. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O. niloticus* (L.). *Theor Appl Genet*, v.82, p.144-152, 1991.

Mair GC, Scott AG, Penman DJ, Beardmore JA, Skibinski OF. Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male population. *Aquaculture*, v.137 p.313-322, 1995.

Mair GC, Little DC. Population control in farmed tilapias. *NAGA: ICLARM Q*, v.17, n.4, p.8-13, 1991.

Marengoni NG, Onoue Y. Ultraviolet-induced androgenesis in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and hybrid Nile x blue tilapia *O. aureus* (Steindachner). *Aquacult Res*, v.29 p.359-366, 1998.

Melo DC, Oliveira DAA, Sousa AB, Carvalho DC, Seerig AS, Crepaldi DV, Teixeira EA, Ribeiro LP, Faria PM. Manipulação cromossômica: aplicações práticas na aquicultura. *Rev Bras Reprod Anim*, v.30, p.105-112, 2006.

Myers JM. Tetraploid induction in *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, v.57 p.281-287, 1986.

Nakamura M, Takahashi H. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica* with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing feminization of genetic fishes. *Bull Fac Hokkaido Univ*, v.24 p.1-13, 1973.

Oliveira JS. Manipulação genômica em peixes (indução de triploidia). *PanorAqüicult*, v.9, n.54, p.43-47, 1999.

Pandian TJ, Koteeswaran R. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiologia*, v.384, p.167-243, 1998.

Pechsiri J, Yakupitiyage A. A comparative study of growth and feed utilization efficiency of sex-reversed diploid and triploid Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquacult Res*, v.36, p.45-51, 2005.

Phelps RP, Popma TJ. Sex reversal of Tilapia. In: Costapierce BA, Rakocy JE. (Ed.). *Tilapia aquaculture in the Louisiana*: New Orleans, LA: The World Aquaculture Society, 2000. v.2, p.34-59.

Piferrer F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, v.197 p.229-281, 2001.

Piferrer F, Beaumont A, Falguière JC, Flajshans M, Haffray P, Colombo L. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*, v.293, p.125-156, 2009.

Popma TJ, Green BW. *Sex reversal of tilapia in earthen ponds: aquaculture production manual*. Auburn, AL: Auburn University, 1990. 15p. (Research and Development Series, 35).

Tabata YA, Rigolino MG, Nagata MK. Produção de fêmeas masculinizadas de truta arco-íris com ductos espermáticos funcionais. In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 2000, Florianópolis, SC. Florianópolis: Aquicultura Brasil, 2000. CD-ROM.

Tiwary BK, Kirubakaran R, Ray AK. The biology of triploid fish. *Rev Fish Biol Fish*, v.14, p.391-402, 2004.

Tsukamoto RY, Rigolino MG. Aplicações da biotecnologia à aquicultura. In: Encontro Brasileiro de Ictiologia, 10, 1993, São Paulo, SP. *Anais*. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, 1993. p.314-338.

Wassermann GJ, Afonso LOB. Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) by androgen immersion. *Aquacult Res*, v.34, p.65-71, 2003.

Wohlfarth GW. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture. *Aquacult Fish Manag*, v.25 p.781-788, 1994.

Yamamoto T. Sex differentiation. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM. (Ed.). *Fish physiology*: IX. San Diego, CA: Academic Press, 1969. v.3 p.117-158.

Yoshikawa H, Oguri M. Sex differentiation in a cichlid, *Tilapia zillii*. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, v.44, p.313-318, 1977.