

**Universidade Estadual Paulista – UNESP**  
**Centro De Aquicultura da UNESP – CAUNESP**

**Tempos de exposição e concentrações de  
17 $\alpha$ -Metiltestosterona em banhos de imersão  
na tilápia-do-Nilo: masculinização e  
desempenho produtivo**

**Gabriela da Silva Carvalho**

Jaboticabal, SP

2025

**Universidade Estadual Paulista – UNESP**  
**Centro De Aquicultura da UNESP – CAUNESP**

**Tempos de exposição e concentrações de  
17 $\alpha$ -Metiltestosterona em banhos de imersão  
na tilápia-do-Nilo: masculinização e  
desempenho produtivo**

**Gabriela da Silva Carvalho**

**Orientador: Prof. Dr.  
Eduardo Antônio Sanches**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C331t | <p>Carvalho, Gabriela</p> <p>Tempos de exposição e concentrações de 17<math>\beta</math>-Metiltestosterona em banhos de inersão na tilápia-do-Nilo: masculinização e desempenho produtivo / Gabriela Carvalho. -- Jaboticabal, 2026</p> <p>45 p. : il., tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal</p> <p>Orientadora: Eduardo Antônio Sanches</p> <p>1. Tilápia-do-nilo. 2. Masculinização. 3. 17<math>\beta</math>-metiltestosterona. 4. Desempenho zootécnico. 5. Piscicultura. I. Título.</p> |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Tempos de exposição e concentrações de 17 $\alpha$ -Metilttestosterona em banhos de imersão na tilápia-do-Nilo: masculinização e desempenho produtivo

AUTORA: GABRIELA DA SILVA CARVALHO

ORIENTADOR: EDUARDO ANTÔNIO SANCHES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, Área de Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Assinado de forma digital por EDUARDO  
ANTONIO SANCHES:05482916910  
Dados: 2025.11.26 17:10:31 -03'00'

Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES (Participação Virtual)  
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / UNESP / Câmpus de Registro - FCAVR

Documento assinado digitalmente  
 JAYME APARECIDO POVH  
Data: 26/11/2025 17:17:09-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. JAYME APARECIDO POVH (Participação Virtual)  
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Documento assinado digitalmente  
 ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA  
Data: 26/11/2025 17:27:16-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP / Câmpus de Ilha Solteira - FEIS

, 26 de novembro de 2025.

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico este trabalho à minha mãe Claudilene Maria da Silva a  
qual me ensinou a sempre seguir o caminho correto por mais  
difícil que pareça!**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção, força e sabedoria concedidas ao longo de toda esta jornada, permitindo que eu chegasse até aqui.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), pela infraestrutura disponibilizada, bem como ao Laboratório de Aquicultura, essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), pelos ensinamentos e pela formação proporcionada durante estes dois anos de pós-graduação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Antônio Sanches, pela orientação, dedicação, confiança, incentivo contínuo e por compartilhar seus conhecimentos ao longo deste percurso.

Ao Grupo de Aquicultura do pesquisador Eduardo Antônio Sanches – UNESP, expresso minha sincera gratidão aos colegas de laboratório pela colaboração e apoio durante todas as etapas da pesquisa: Ana, Alexa, Júlia, Janaina, Lukas, Guilherme, Raquel, Paulo e Vinícius. A contribuição de cada um foi fundamental para a realização desta dissertação.

À empresa Nexco e ao Sr. Geraldo, pela doação do hormônio Metiltestosterona Alfarever, imprescindível para a execução do experimento.

À S3 Piscicultura, na pessoa de Thaís Gornati Gonçalves, pela cessão do material biológico utilizado neste estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À minha amiga Cíntia, pela amizade que ultrapassa os anos de graduação, pela motivação constante e pelo apoio, mesmo à distância.

Ao meu namorado, Hadley, pelo amor, paciência, incentivo e companheirismo, sempre presentes nos momentos mais desafiadores desta trajetória.

À minha irmã Jaqueline, pelo apoio, encorajamento e carinho durante todo o processo, e aos meus sobrinhos Pedro e Laura Maria, que foram fonte de inspiração e força diária.

Por fim, à minha mãe, pelo amor incondicional, pelo apoio em todas as etapas da minha vida, pela força, dedicação e pela confiança que sempre depositou em mim. A ela, devo grande parte desta conquista.

## **EPIGRAFE**

**“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem buscar e vencer obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”**

**(José de Alencar).**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Disposição das unidades experimentais em sistemas de recirculação utilizados durante o período de crescimento dos peixes.....**20**
- Figura 2.** Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis Niloticus*) 44 dias pós eclosão com 4,8cm. Foto: Gabriela Carvalho.....**22**
- Figura 3.** Gônadas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) coradas com acetato de carmim, observadas em microscopia óptica (10x). (A) Indivíduo intersexo, com presença simultânea de tecido testicular (1) e oócitos (2) na mesma gônada; (B) Fêmea, apresentando oócitos distribuídos ao longo de toda a lâmina (3); (C) Macho, com tecido gonadal caracterizado pela ausência de oócitos (4) .....**23**
- Figura 4.** Percentual de machos em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona (500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 87,566 + 0,6817x - 0,0103x^2$ ;  $R^2 = 0,3284$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 4,46$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de máxima resposta em aproximadamente 33,1 h de exposição, correspondendo a cerca de 98,8% de machos.....**25**
- Figura 5.** Percentual de fêmeas em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona (500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 10,348 - 0,5163x + 0,0067x^2$ ;  $R^2 = 0,2805$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 3,77$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de mínima resposta em aproximadamente 38,5 h de exposição, correspondendo a valores próximos de 0,4% de fêmeas) .....**26**
- Figura 6.** Percentual de indivíduos intersexo em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona (500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 2,0858 - 0,1654x + 0,0036x^2$ ;  $R^2 = 0,3337$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 4,76$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de mínima resposta em aproximadamente 23,0 h de exposição, correspondendo a valores próximos de 0,18% de indivíduos intersexo.....**27**
- Figura 7.** Taxa média masculinização (%) de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a diferentes doses 17 $\alpha$ -metiltestosterona (17 $\alpha$ -MT) aplicadas por banhos de imersão.....**32**

**Figura 8.** Taxa de média de fêmeas (%) de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). submetida a diferentes doses 17 $\alpha$ -metiltestosterona (17 $\alpha$ -MT) aplicadas por banhos de imersão. ....**33**

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabela 1.</b> Desempenho zootécnico de larvas de tilápia-do-Nilo submetidas a diferentes tempos de exposição ao hormônio $17\alpha$ -metiltestosterona.....          | <b>30</b> |
| <b>Tabela 2.</b> Análise de variáveis zootécnicas de tilápias-do-Nilo submetidas a diferentes concentrações de $17\alpha$ -metiltestosterona por banhos de imersão..... | <b>35</b> |
| <b>Tabela 3.</b> Parâmetros físico-químicos da água registrados durante os Experimentos 1 e 2 (média $\pm$ desvio padrão) .....                                         | <b>37</b> |

## SUMÁRIO

|                                                                                                      |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.INTRODUÇÃO.....</b>                                                                             | <b>12</b> |
| <b>2.OBJETIVO GERAL .....</b>                                                                        | <b>15</b> |
| <b>2.1 Objetivo Específico .....</b>                                                                 | <b>15</b> |
| <b>3.MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                     | <b>16</b> |
| 3.1 <i>Coleta e incubação de ovos e embriões.....</i>                                                | <b>16</b> |
| 3.2 <i>Delineamento experimental e aplicação hormonal.....</i>                                       | <b>17</b> |
| 3.3 <i>Experimento 1: Diferentes tempos de exposição.....</i>                                        | <b>17</b> |
| 3.4 <i>Experimento 2: Diferentes doses hormonais.....</i>                                            | <b>17</b> |
| 3.5 <i>Sistemas de recirculação.....</i>                                                             | <b>18</b> |
| 3.6 <i>Avaliação Zootécnica e coleta de dados .....</i>                                              | <b>21</b> |
| 3.7 <i>Análise estatística.....</i>                                                                  | <b>23</b> |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                                                            | <b>25</b> |
| 4.1 <i>Experimento 01: diferentes tempos de exposição.....</i>                                       | <b>25</b> |
| 4.2 <i>Experimento 02: diferentes doses do hormônio 17-<math>\alpha</math>-metiltestosteron.....</i> | <b>31</b> |
| 4.3 <i>Parâmetros de qualidade da água.....</i>                                                      | <b>36</b> |
| <b>6. DISCUSSÃO.....</b>                                                                             | <b>38</b> |
| <b>7.CONCLUSÃO.....</b>                                                                              | <b>41</b> |
| <b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                                            | <b>42</b> |

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes tempos de exposição e concentrações do hormônio 17 $\alpha$ -metiltestosterona (17 $\alpha$ -MT), aplicados por banho de imersão, sobre a masculinização e o desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). O trabalho foi conduzido em dois experimentos, em delineamento inteiramente casualizado. No Experimento 1, larvas com 10 dias pós-eclosão foram submetidas a seis tempos de exposição ao hormônio (0, 12, 24, 36, 48 e 60 horas), com quatro repetições por tratamento e 60 larvas por unidade experimental. O tempo de exposição não influenciou as variáveis zootécnicas nem a taxa de masculinização ( $p > 0,05$ ). Entretanto, observou-se diferença significativa na ocorrência de indivíduos intersexo ( $p = 0,001$ ), com maiores valores nos tempos de 12, 24 e 60 horas. No Experimento 2, avaliou-se o efeito de quatro concentrações de 17 $\alpha$ -MT (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>), utilizando-se 900 larvas, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. As concentrações influenciaram significativamente a taxa de masculinização ( $p < 0,01$ ), com ajuste a modelo polinomial de segunda ordem e ponto ótimo teórico estimado em aproximadamente 1,3 mg L<sup>-1</sup>. Embora a concentração de 1,5 mg L<sup>-1</sup> tenha apresentado a maior proporção de machos, não diferiu estatisticamente da concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> resultou nos melhores valores de desempenho zootécnico ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, visando à obtenção de populações predominantemente masculinas e considerando o equilíbrio entre eficiência de masculinização, desempenho zootécnico e utilização da menor dose eficaz, recomenda-se o protocolo de imersão de larvas aos 10 dias pós-eclosão por 36 horas na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 17 $\alpha$ -metiltestosterona.

**Palavras-chave:** manejo hormonal; masculinização; monossexo; piscicultura; reversão sexual; tilapicultura.

## Abstract

The present study aimed to evaluate the effects of different exposure times and concentrations of the hormone 17 $\alpha$ -methyltestosterone (17 $\alpha$ -MT), applied through immersion baths, on the masculinization and zootechnical performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The study was conducted in two experiments using a completely randomized design.

In Experiment 1, larvae at 10 days post-hatching were subjected to six hormone exposure times (0, 12, 24, 36, 48, and 60 hours), with four replicates per treatment and 60 larvae per experimental unit. Exposure time did not significantly affect zootechnical variables or the masculinization rate ( $p > 0.05$ ). However, a significant difference was observed in the occurrence of intersex individuals ( $p = 0.001$ ), with higher values at exposure times of 12, 24, and 60 hours.

In Experiment 2, the effects of four concentrations of 17 $\alpha$ -MT (0.0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg L<sup>-1</sup>) were evaluated using 900 larvae distributed in a completely randomized design with four replicates per treatment. Hormone concentration significantly affected the masculinization rate ( $p < 0.01$ ), fitting a second-order polynomial regression model with a theoretical optimum estimated at approximately 1.3 mg L<sup>-1</sup>. Although the concentration of 1.5 mg L<sup>-1</sup> resulted in the highest proportion of males, it did not differ statistically from 1.0 mg L<sup>-1</sup>, while the concentration of 0.5 mg L<sup>-1</sup> yielded the best zootechnical performance ( $p < 0.05$ ). Therefore, aiming to obtain predominantly male populations and considering the balance between masculinization efficiency, zootechnical performance, and the use of the lowest effective hormone dose, the immersion protocol of larvae at 10 days post-hatching for 36 hours at a concentration of 1.0 mg L<sup>-1</sup> of 17 $\alpha$ -methyltestosterone is recommended.

**Keywords:** hormonal management; masculinization; monosex; aquaculture; sex reversal; tilapia farming.

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo global de pescado tem aumentado de forma consistente nas últimas décadas, impulsionado pela crescente demanda por proteínas de alta qualidade e pelo avanço contínuo da aquicultura. Entre as espécies cultivadas, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) se destaca pela ampla adaptabilidade às condições de cultivo, rápido crescimento e carne de excelente qualidade. Segundo o relatório mais recente da Food and Agriculture Organization (FAO, 2024), a produção aquícola mundial atingiu níveis recordes, refletindo o progresso tecnológico e a intensificação dos sistemas de cultivo em diversos países.

No Brasil, a tilapicultura ocupa posição de destaque, com produção de 662.230 toneladas em 2024 — um crescimento de 14,36% em relação ao ano anterior consolidando o país como o quarto maior produtor mundial (Peixe BR, 2025). Esse desempenho está associado ao aprimoramento de técnicas de produção e ao desenvolvimento de linhagens geneticamente superiores, buscando maior eficiência e sustentabilidade (Benzie et al., 2021; Costa et al., 2022; Yáñez et al., 2022). Além de sua relevância produtiva, o setor desempenha papel socioeconômico fundamental nas regiões produtoras, contribuindo para a geração de emprego, renda e segurança alimentar (Souza et al., 2023; Oliveira et al., 2024).

Apesar desses avanços, a produção intensiva de tilápia-do-Nilo enfrenta desafios importantes, especialmente relacionados à reprodução descontrolada. A espécie apresenta maturidade sexual precoce e desova contínua, o que aumenta a densidade de estocagem, intensifica a competição por alimento, eleva a heterogeneidade de tamanhos e reduz o desempenho zootécnico do plantel, comprometendo a produtividade e a rentabilidade do cultivo. Uma estratégia consolidada para minimizar esses efeitos é o uso de plantéis monossexo, compostos predominantemente por machos, pois estes apresentam crescimento superior ao das fêmeas. Em linhagens como a GIFT, por exemplo, o peso assintótico de fêmeas corresponde a cerca de 62,5% do peso dos machos (Oliveira et al., 2013), evidenciando o melhor desempenho zootécnico dos machos em sistemas de cultivo separados.

Nesse contexto, técnicas de reversão sexual têm sido amplamente aplicadas para a produção de lotes monossexo, sendo a administração oral de hormônios androgênicos especialmente a  $17\alpha$ -metiltestosterona o método mais utilizado (Beardmore; McKenna; Devlin, 2001; El-Sayed, 2021). A eficácia dessa abordagem está relacionada ao período em que as larvas apresentam gônadas indiferenciadas, com diferenciação sexual ocorrendo entre o 9º e o 20º dia pós-eclosão, janela considerada a mais sensível à ação hormonal (Bombardelli & Hayashi, 2003; Somoza & Vizziano, 2010). Entretanto, embora eficiente, esse método envolve preocupações ambientais e sanitárias, além de apresentar custo elevado, devido ao uso contínuo de rações com hormônio (Dias-Koberstein, 2007; Yang et al., 2010).

Diante disso, a técnica de banhos de imersão tem ganhado atenção crescente, especialmente a partir de 2019, como alternativa capaz de reduzir resíduos hormonais no ambiente, facilitar a aplicação e diminuir os custos de produção (Gale et al., 1999; Pandian & Sheela, 1995). Nesse método, as larvas são expostas periodicamente ou de forma contínua a soluções contendo o hormônio, o que possibilita a indução da diferenciação gonadal e formação de populações predominantemente masculinas. Estudos pioneiros relataram taxas de masculinização superiores a 90% com tempos de exposição entre 3 e 12 horas (Pandian & Sheela, 1995), 5 a 20 horas (Bombardelli et al., 2004) e 12 a 24 horas (Galman & Avtalion, 1989), sugerindo que períodos mais longos tendem a aumentar a eficiência do processo.

Quanto aos efeitos biológicos, pesquisas indicam que o método de imersão não compromete a sobrevivência nem o desempenho zootécnico quando aplicado com doses adequadas, apresentando resultados comparáveis aos lotes controle (Gale et al., 1999; Bombardelli et al., 2007). Contudo, protocolos mal ajustados, envolvendo concentrações elevadas ou tempos excessivos, podem reduzir a vitalidade das larvas, elevando o estresse e prejudicando o crescimento inicial. Assim, apesar de suas vantagens, a aplicação comercial dos banhos de imersão ainda é limitada pela ausência de protocolos padronizados que definam claramente a dose ideal, o tempo ótimo de exposição e a idade adequada das larvas.

Diante dessas lacunas, torna-se essencial avaliar diferentes tempos de exposição a fim de identificar o intervalo mais eficiente e seguro para maximizar a masculinização sem comprometer a sobrevivência e o desempenho inicial das larvas. Da mesma forma, investigar diferentes concentrações hormonais em tempos promissores como a exposição de 36 horas, frequentemente associada a elevadas taxas de masculinização permite determinar a dose mínima eficaz, contribuindo para protocolos mais acessíveis, sustentáveis e tecnicamente robustos. Assim, compreender os fatores que influenciam a eficiência da técnica de imersão é fundamental para validar sua aplicação em escala comercial e ampliar a competitividade, sustentabilidade e segurança da produção de tilápia-do-Nilo (Bombardelli et al., 2007).

## 2. OBJETIVO GERAL

- Determinar a combinação mais eficiente de dose e tempo de exposição do hormônio 17 $\alpha$ -metiltestosterona, aplicada por banhos de imersão, para a masculinização da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

### 2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência de diferentes doses de 17 $\alpha$ -metiltestosterona aplicadas por banhos de imersão quanto ao percentual de machos e à ocorrência de intersexos.
- Avaliar a eficiência de diferentes tempos de exposição ao hormônio durante o banho de imersão quanto ao percentual de machos e à ocorrência de intersexos.
- Avaliar o desempenho zootécnico de alevinos submetidos à reversão sexual por banhos de imersão em diferentes doses e tempos de exposição.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR), Câmpus de Registro/SP. A pesquisa está em conformidade com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Câmpus de Registro da UNESP (nº 30/2025).

#### 3.1 Coleta e incubação de ovos e embriões

Os ovos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapias*), foram obtidos na empresa S3 Piscicultura, localizada no município de Registro/SP. A reprodução ocorreu em sistema de recirculação de água (RAS), utilizando reprodutores organizados na razão sexual de 1 macho para 3 fêmeas. A coleta foi realizada manualmente diretamente da cavidade bucal de uma única fêmea um dia após a desova, assegurando a utilização de ovos recém-fertilizados (amarelos) e com a mesma idade embrionária, evitando a mistura de lotes com diferentes estágios de desenvolvimento.

Após o transporte (20min), os ovos foram incubados em sistema de recirculação com volume total de 150 L, mantido a  $26 \pm 1$  °C. A incubação foi conduzida em duas incubadoras com capacidade de 2 L, sob fluxo contínuo de água. A eclosão ocorreu aproximadamente quatro dias após o início da incubação. À medida que as larvas iniciavam a natação ativa, ascendiam à superfície e eram conduzidas para a bandeja coletora acoplada ao sistema.

Após a eclosão, as larvas foram transferidas para uma caixa de 100 L pertencente ao mesmo sistema de recirculação, onde permaneceram por dez dias. Durante esse período, foram alimentadas três vezes ao dia até a saciedade, utilizando ração farelada contendo 55% de proteína bruta, adequada ao estágio inicial de desenvolvimento.

### 3.2 Delineamento experimental e aplicação hormonal

Ao décimo dia pós-eclosão, iniciou-se a fase experimental, na qual foram conduzidos dois experimentos distintos, ambos utilizando o método de banho de imersão com o hormônio 17 $\alpha$ -metiltestosterona. No Experimento 1, avaliou-se o efeito de diferentes tempos de exposição ao hormônio, sendo as larvas submetidas a banhos de imersão com duração de 12, 24, 36, 48 e 60 horas. No Experimento 2, avaliou-se o efeito de diferentes doses hormonais, mantendo-se fixo o tempo de exposição de 36 horas, definido com base nos resultados do primeiro experimento.

Durante o período de exposição ao hormônio, em ambos os experimentos, as larvas permaneceram em jejum, a fim de evitar qualquer interferência nutricional no efeito do tratamento hormonal. A alimentação foi retomada somente após a conclusão de todos os tempos de exposição, garantindo a padronização do manejo entre os tratamentos.

### 3.3. Experimento 1: diferentes tempos de exposição

O experimento foi conduzido nas mesmas condições laboratoriais descritas no item 4.1, utilizando 1.320 larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com dez dias pós-eclosão (DPE). As larvas foram previamente sedadas com eugenol (50 mg L<sup>-1</sup> por 1 minuto), conforme Vidal et al. (2008), e distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e quatro repetições cada.

Cada unidade experimental foi composta por 55 larvas, totalizando 1.320 organismos (55 larvas  $\times$  24 unidades experimentais). Os tratamentos representaram diferentes tempos de exposição à solução hormonal contendo 500  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de 17 $\alpha$ -metiltestosterona (17 $\alpha$ -MT), conforme protocolo utilizado em estudos com imersão (Gale et al., 1999). Os tratamentos foram: controle (sem hormônio), 12, 24, 36, 48 e 60 horas de exposição.

As larvas pertencentes aos tratamentos com hormônio foram alocadas em recipientes de 1 L, pintados externamente com tinta preta e recobertos com filme plástico e material opaco, a fim de reduzir a evaporação e eliminar a influência do fotoperíodo durante o banho, conforme adaptação do método descrito por

Bombardelli e Hayashi (2005). Durante todo o período de imersão, manteve-se aeração constante, garantindo adequada oxigenação e homogeneidade da solução hormonal.

A densidade de estocagem durante a imersão correspondeu a 55 larvas/L, valor superior ao usualmente empregado em recria, porém compatível com protocolos de imersão de curta duração, que toleram maior densidade devido ao pouco tempo de permanência na solução ( $\leq 60$  h), ausência de alimentação e dinâmica metabólica reduzida.

Durante os tempos de exposição (12 a 60 h), as larvas não receberam alimentação, prática relatada em estudos de imersão para evitar interferências nutricionais, reduzir o acúmulo de resíduos e prevenir deterioração da qualidade da água durante a permanência na solução hormonal (Gale et al., 1999; El-Greisy & El-Gamal, 2012). A alimentação somente foi retomada após o término dos banhos de todos os tratamentos.

Após o término dos períodos de exposição, todas as larvas foram transferidas para tanques de 25 L, integrados ao mesmo sistema de recirculação (RAS), onde permaneceram por 44 dias para avaliação das variáveis de desempenho zootécnico. A densidade de estocagem nessa fase foi de 2,4 larvas/L, dentro da faixa recomendada para pós-larvas de tilápia em sistemas controlados (El-Sayed, 2020).

### *3.4 Experimento 2: diferentes doses hormonais*

Para a realização deste experimento, foram utilizadas 900 larvas de tilápia-do-Nilo com dez dias pós-eclosão (DPE). As larvas foram sedadas com eugenol ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) por um minuto, conforme Vidal et al. (2008), e posteriormente distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos e três repetições ( $n = 12$ ).

Os tratamentos corresponderam a diferentes concentrações de  $17\alpha$ -metiltestosterona ( $17\alpha$ -MT) aplicadas por 36 horas de banho de imersão, sendo elas:  $0,0 \text{ mg L}^{-1}$  (controle, contendo 0,04% de etanol),  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

O tempo de 36 horas foi selecionado com base nos resultados do Experimento 1, no qual esse período apresentou eficiência da masculinização e ausência de prejuízos ao desempenho zootécnico. Esse intervalo coincide com a janela crítica de diferenciação sexual, fase em que as larvas apresentam maior sensibilidade à ação de esteroides exógenos, favorecendo a absorção e a efetividade do hormônio. Além disso, esse tempo de exposição está de acordo com a literatura, que indica janelas entre 24 e 48 horas como adequadas para maximizar o efeito do  $17\alpha$ -metiltestosterona sem comprometer o desempenho produtivo dos peixes (Gale et al., 1999; El-Sayed, 2020)

Cada unidade experimental consistiu em um recipiente de 1 L contendo 60 larvas, com peso médio inicial de  $0,012 \pm 0,002$  g e comprimento médio inicial de  $0,16 \pm 0,02$  cm. Os recipientes foram pintados externamente com tinta preta, cobertos com filme plástico para evitar a evaporação e envoltos com material opaco para impedir a influência do fotoperíodo durante o período de imersão, conforme metodologia de Bombardelli e Hayashi (2005). Aeração contínua foi fornecida para manter a homogeneidade da solução hormonal.

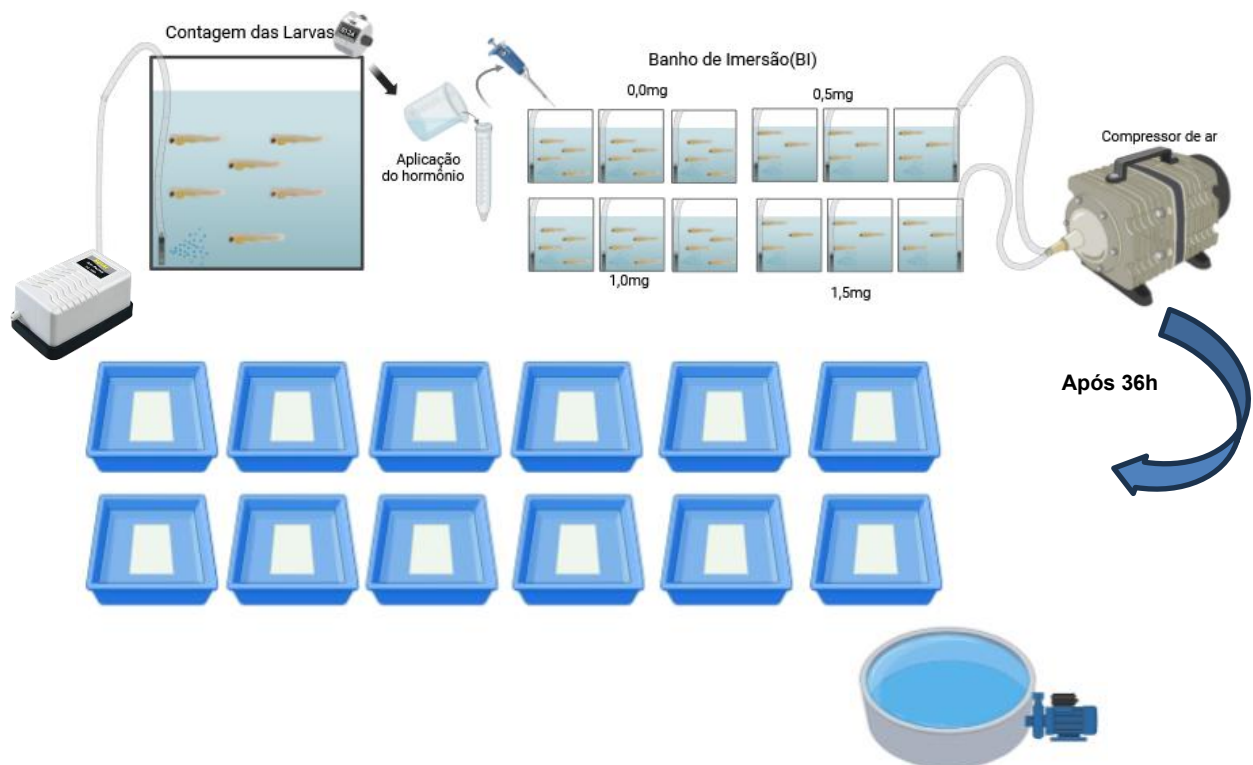
A solução de  $17\alpha$ -MT foi preparada a partir de hormônio previamente dissolvido em etanol, solvente comumente utilizado devido à baixa solubilidade do esteroide em água e ao fato de pequenas concentrações (até 0,1%) não apresentarem efeitos fisiológicos significativos sobre larvas de peixes (Piferrer et al., 2012). Assim, o tratamento controle recebeu apenas a solução de etanol na mesma concentração final utilizada nos demais tratamentos (0,04%).

Ao término das 36 horas de exposição, as larvas foram transferidas para recipientes contendo água limpa para remoção de resíduos de hormônio e, em seguida, encaminhadas para suas respectivas caixas experimentais no sistema de recirculação (RAS), onde permaneceram por 44 dias para avaliação do crescimento e sobrevivência. As águas contendo hormônio foram tratadas com carvão ativado por 24 horas antes do descarte, conforme recomendações de Bombardelli e Hayashi (2005), a fim de evitar contaminação ambiental.

### 3.5 Sistemas de recirculação

Os dois experimentos foram conduzidos em um único sistema de recirculação de água fechado (RAS), composto por caixas retangulares de 25 L de volume útil, interligadas a um reservatório central com volume total aproximado de 800 L (Figura 1). Todas as unidades experimentais permaneceram conectadas ao mesmo corpo hídrico e filtragem biológica, mantendo condições ambientais homogêneas ao longo dos 44 dias de cultivo.

RAS foi composto por bomba de circulação, filtro biológico contendo mídia de alta área superficial para nitrificação, além de um decantador e sistema de retorno por gravidade. O fluxo de água foi mantido constante em aproximadamente 1,5 a 2 L min<sup>-1</sup> por caixa, garantindo renovação contínua e manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido. O sistema operou em circuito fechado, com reposição de água somente para compensar evaporação e perdas durante a limpeza diária.



**Figura 1.** Disposição das unidades experimentais em sistemas de recirculação utilizados durante o período de crescimento dos peixes.

Antes do início de cada experimento, as larvas permaneceram por 10 dias em caixas de 100 L no mesmo sistema, recebendo ração farelada GuabiTech Inicial Larvas (55% PB) até a saciedade. Durante os períodos de exposição hormonal (banhos), os peixes não receberam alimentação. A oferta de ração foi retomada somente após a finalização de todos os tempos de exposição (Experimento 1) ou após o término das 36 horas de banho (Experimento 2), quando todos os tratamentos foram transferidos para suas respectivas caixas no RAS.

Durante o período experimental de 44 dias, os peixes foram alimentados seis vezes ao dia (7h, 9h, 11h, 13h, 15h e 17h), até a saciedade aparente. Nos primeiros 15 dias, foi fornecida ração GuabiTech Inicial Larvas (55% PB) e, do 15º ao 44º dia, ração microextrusada GuabiTech Inicial Alevinos (1 mm; 45% PB). A quantidade oferecida foi pesada diariamente, permitindo estimar o consumo alimentar por unidade experimental.

O monitoramento da qualidade da água e o manejo diário foram realizados de forma padronizada em ambos os experimentos. A temperatura da água foi aferida duas vezes ao dia (às 7h e às 17h), utilizando termômetro de máxima e mínima. A sifonagem das caixas foi realizada diariamente para remoção de fezes e resíduos.

Semanalmente, foram monitorados os parâmetros oxigênio dissolvido, pH, amônia e nitrito. As medições de oxigênio dissolvido e pH foram realizadas com oxímetro e pHmetro digitais (YSI Environmental EcoSense®), enquanto as concentrações de amônia e nitrito foram determinadas por meio de kits colorimétricos comerciais (Alfakit®).

### *3.6 Avaliação Zootécnica e coleta de dados*

Ao final do experimento (44dias) (Figura 2), os alevinos foram insensibilizados em gelo (2°C) e abatidos por choque térmico. Em seguida, foram fixados inteiros em solução formol 10% e, posteriormente, pesados e medidos.

Os parâmetros de desempenho zootécnico avaliados foram: ganhos em Peso Médio (GPM), comprimento Médio Final (CMF), peso Médio Final (PMF), taxa de Sobrevivência (%), taxa de crescimento específico (TCE), conversão alimentar

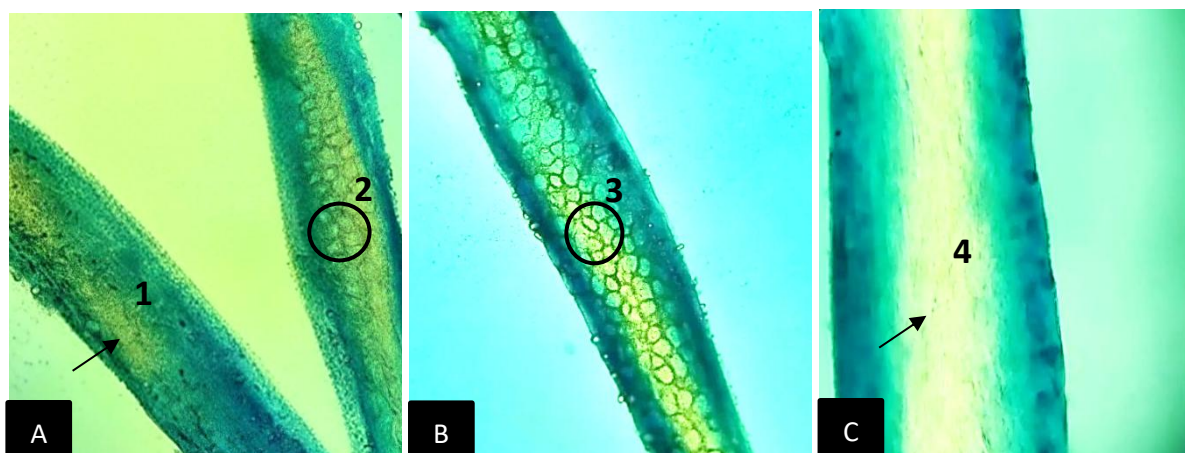
aparente (CAA) e eficiência alimentar (EA) conforme descrito por Fracalossi *et al.* (2013).



**Figura 2.** Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) 44 dias pós eclosão com 4,8cm. Foto: Gabriela Carvalho.

Para a avaliação do sexo, foi realizado um corte abdominal no sentido da abertura urogenital em direção à região cefálica, seguido da retirada das vísceras e, posteriormente, das gônadas. As gônadas foram então dispostas sobre lâminas de vidro, adicionou-se solução de acetato de carmim a 4% e, em seguida, as amostras foram cobertas com lamínula, utilizando-se a técnica de *squash*.

A análise foi realizada em microscópio óptico, utilizando objetiva de 40×, conforme descrito por Bombardelli *et al.* (2007). Os exemplares foram classificados quanto ao sexo em: machos, caracterizados pela presença de tecido gonadal sem oócitos; fêmeas, pela presença de oócitos ao longo de toda a extensão da lâmina; e indivíduos intersexuais, pela presença simultânea de tecido gonadal indiferenciado e oócitos na mesma gônada (Figura 3).



**Figura 3.** Gônadas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) coradas com acetato de carmim, observadas em microscopia óptica (10x) com 44 dias pós eclosão. (A) Indivíduo intersexo, com presença simultânea de tecido testicular (1) e oócitos (2) na mesma gônada; (B) Fêmea, apresentando oócitos distribuídos ao longo de toda a lâmina (3); (C) Macho, com tecido gonadal caracterizado pela ausência de oócitos (4).

### 3.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram conduzidas separadamente para cada experimento, considerando a natureza das variáveis avaliadas e o atendimento aos pressupostos dos testes paramétricos.

No Experimento 1, inicialmente foram verificados os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Para as variáveis que não atenderam simultaneamente a esses critérios, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal–Wallis, adotando-se nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Quando identificadas diferenças significativas entre os tratamentos, utilizou-se o pós-teste de Dunn para a comparação múltipla das medianas.

No Experimento 2, as variáveis zootécnicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA de um fator – one-way ANOVA), considerando-se o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Quando observadas diferenças estatisticamente significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. Entretanto, o Experimento 2 não foi submetido à ANOVA, uma vez que o fator avaliado foi

quantitativo (tempo de exposição), sendo os dados analisados por regressão polinomial de segunda ordem.

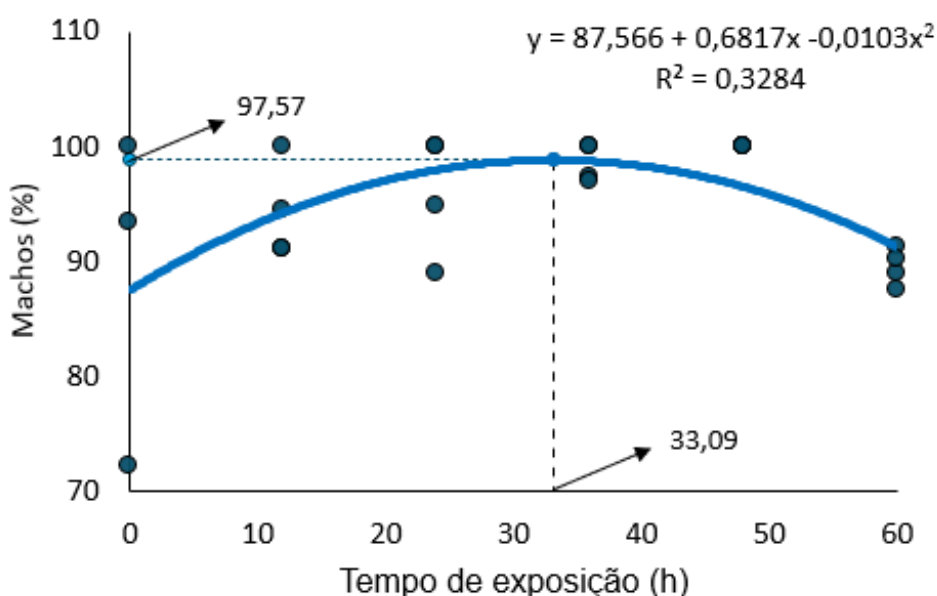
A variável percentual de machos foi analisada por meio de regressão polinomial de segunda ordem, com o objetivo de avaliar a relação entre as doses de  $17\alpha$ -metiltestosterona e a taxa de masculinização. A qualidade do ajuste dos modelos foi avaliada com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), no valor de F e no p-valor do modelo.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (versão 4.4.3) e o Microsoft Excel, com auxílio do suplemento Real Statistics.

## 4 RESULTADOS

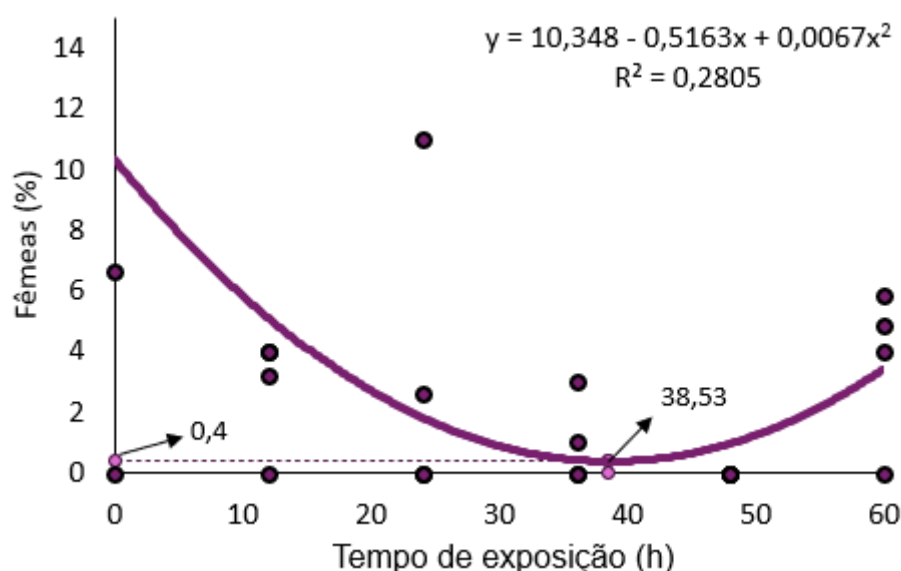
### 4.1 Experimento 01: diferentes tempos de exposição.

A proporção de machos apresentou ajuste significativo ao modelo polinomial de segunda ordem em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Figura 4), evidenciando variação da resposta ao longo do período avaliado ( $p < 0,05$ ). A partir da derivada da equação ajustada, o modelo estimou o maior percentual de masculinização em aproximadamente 33 h de exposição. Embora o teste de Dunn não tenha indicado diferenças estatisticamente significativas entre os tempos avaliados ( $p > 0,05$ ), a análise de regressão revelou uma tendência quadrática da resposta, indicando que o processo de masculinização não ocorre de forma linear ao longo do tempo de exposição.



**Figura 4.** Percentual de machos em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 87,566 + 0,6817x - 0,0103x^2$ ;  $R^2 = 0,3284$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 4,46$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de máxima resposta em aproximadamente 33,1 h de exposição, correspondendo a cerca de 98,8% de machos

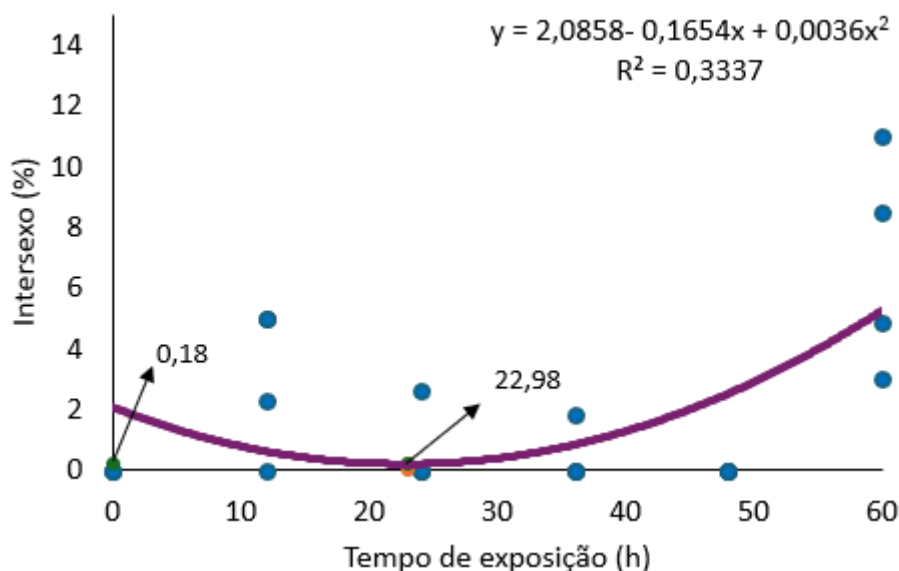
A proporção de fêmeas apresentou ajuste significativo ao modelo polinomial de segunda ordem em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona (Figura 5), evidenciando efeito significativo do tempo de exposição sobre essa variável ( $p < 0,05$ ). Observou-se redução do percentual de fêmeas com o aumento do tempo de exposição, com valores mínimos estimados pelo modelo em aproximadamente 38,5 h, seguida por discreta elevação no tempo de 60 h. O ajuste do modelo indicou tendência quadrática da resposta, sugerindo que a variação do percentual de fêmeas não ocorreu de forma linear ao longo do período avaliado.



**Figura 5.** Percentual de fêmeas em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 10,348 - 0,5163x + 0,0067x^2$ ;  $R^2 = 0,2805$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 3,77$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de mínima resposta em aproximadamente 38,5 h de exposição, correspondendo a valores próximos de 0,4% de fêmeas

A ocorrência de indivíduos intersexo apresentou baixa frequência em todos os tempos de exposição avaliados. Observou-se variação discreta da porcentagem de intersexo em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona, com ajuste significativo ao modelo polinomial de segunda ordem (Figura 6;  $p < 0,05$ ). No entanto, a elevada dispersão dos dados e o baixo

coeficiente de determinação indicam que o modelo explicou apenas parte da variação observada. A partir da derivada da equação ajustada, o modelo estimou valor mínimo de intersexo em aproximadamente 23 h de exposição, sugerindo que, embora a resposta não ocorra de forma linear, o efeito do tempo de exposição sobre a ocorrência de indivíduos intersexo foi limitado nas condições experimentais.



**Figura 6.** Percentual de indivíduos intersexo em função do tempo de exposição ao hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Os dados foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem ( $y = 2,0858 - 0,1654x + 0,0036x^2$ ;  $R^2 = 0,3337$ ), o qual apresentou efeito significativo ( $F(2,19) = 4,76$ ;  $p < 0,05$ ). O modelo estimou o ponto de mínima resposta em aproximadamente 23,0 h de exposição, correspondendo a valores próximos de 0,18% de indivíduos intersexo

A sobrevivência variou entre os tempos de exposição ( $p < 0,05$ ), com maiores valores observados nos tratamentos de 24 h e 60 h, os quais diferiram do grupo controle. Os demais tempos apresentaram valores intermediários, sem diferenças estatísticas entre si (Tabela 1).

O peso médio final, o ganho de peso e a taxa de crescimento específico apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), com os menores valores observados no tempo de exposição de 12 h. O grupo controle e o tratamento de 60 h apresentaram os maiores valores para peso médio final.

Quanto à ração total consumida, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), sugerindo que o tempo de exposição ao hormônio não influenciou o consumo total de ração durante o período experimental.

O consumo médio diário variou significativamente entre os tempos avaliados ( $p < 0,05$ ). O consumo foi menor nos tratamentos de 12 h, 24 h e 60 h, em comparação ao grupo controle, enquanto os tratamentos de 36 h e 48 h apresentaram valores intermediários.

A eficiência alimentar também apresentou diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), com o maior valor observado no tempo de exposição de 60 h, em comparação ao grupo controle. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os outros tempos de exposição.

Para a biomassa média, foi observada diferença significativa entre os tempos de exposição ao hormônio ( $p < 0,05$ ), com o maior valor registrado no tratamento de 24 h, que diferiu significativamente do grupo controle. Os tratamentos de 12 h e 36 h apresentaram valores intermediários, sem diferenças estatísticas significativas entre si (Tabela 1).

O comprimento médio final variou entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), com o menor valor observado no tempo de exposição de 12 h, em comparação ao grupo controle. Os tratamentos de 24 h e 36 h apresentaram valores intermediários, sem diferenças estatísticas significativas entre eles.

Para o ganho de peso, verificou-se diferença significativa entre os tempos avaliados ( $p < 0,05$ ), com o menor valor observado no tratamento de 12 h, em comparação ao grupo controle. Os tratamentos de 24 h e 36 h não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

A conversão alimentar aparente (CAA) apresentou diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), com o menor valor observado no tratamento de 24 h, em comparação ao grupo controle. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários, sem diferença estatística significativa.

A taxa de crescimento específico (TCE) variou entre os tempos de exposição ( $p < 0,05$ ), com o menor valor registrado no tratamento de 12 h. Os

demais tratamentos apresentaram valores intermediários, sem diferença estatística significativa entre si (Tabela 1).

**Tabela 1.** Desempenho zootécnico de larvas de tilápia-do-Nilo submetidas a diferentes tempos de exposição ao hormônio 17 $\alpha$ -metiltestosterona

| Variáveis                                                     | Controle (C)                   | T12                             | T24                            | T36                             | T48                             | T60                           |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <b>Sobrevivência (%) *</b>                                    | 34,43 $\pm$ 22,39 <sup>b</sup> | 59,15 $\pm$ 18,79 <sup>ab</sup> | 64,17 $\pm$ 13,51 <sup>a</sup> | 47,92 $\pm$ 23,01 <sup>ab</sup> | 52,08 $\pm$ 25,14 <sup>ab</sup> | 65,83 $\pm$ 6,66 <sup>a</sup> |
| <b>Peso médio final (g) **</b>                                | 0,46 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>   | 0,35 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>    | 0,39 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>  | 0,42 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>   | 0,44 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>   | 0,46 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>  |
| <b>Biomassa média (g) **</b>                                  | 8,46 $\pm$ 3,67 <sup>c</sup>   | 12,64 $\pm$ 4,65 <sup>bc</sup>  | 17,24 $\pm$ 4,93 <sup>ab</sup> | 12,11 $\pm$ 6,28 <sup>bc</sup>  | 12,42 $\pm$ 4,93 <sup>bc</sup>  | 18,18 $\pm$ 3,87 <sup>a</sup> |
| <b>Comprimento médio final (cm) **</b>                        | 2,93 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>   | 2,69 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>    | 2,77 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>  | 2,81 $\pm$ 0,11 <sup>ab</sup>   | 2,87 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>   | 2,73 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>  |
| <b>Ganho de peso (g) **</b>                                   | 0,29 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>   | 0,18 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>    | 0,22 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>  | 0,25 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>   | 0,27 $\pm$ 0,12 <sup>ab</sup>   | 0,29 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>  |
| <b>Ração total (g) **</b>                                     | 49,15 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>  | 52,73 $\pm$ 5,02 <sup>a</sup>   | 48,82 $\pm$ 4,77 <sup>a</sup>  | 46,89 $\pm$ 3,63 <sup>a</sup>   | 48,79 $\pm$ 4,88 <sup>a</sup>   | 45,86 $\pm$ 3,77 <sup>a</sup> |
| <b>Consumo médio (g/dia) **</b>                               | 3,10 $\pm$ 1,70 <sup>a</sup>   | 1,59 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>    | 1,30 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>   | 2,21 $\pm$ 1,65 <sup>ab</sup>   | 2,20 $\pm$ 1,79 <sup>ab</sup>   | 1,16 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>  |
| <b>Conversão alimentar aparente (CAA) **</b>                  | 13,09 $\pm$ 8,97 <sup>a</sup>  | 9,47 $\pm$ 4,90 <sup>ab</sup>   | 6,33 $\pm$ 2,64 <sup>b</sup>   | 9,35 $\pm$ 7,46 <sup>ab</sup>   | 7,48 $\pm$ 2,76 <sup>b</sup>    | 4,16 $\pm$ 0,55 <sup>b</sup>  |
| <b>Eficiência alimentar (EA) **</b>                           | 10,04 $\pm$ 5,45 <sup>c</sup>  | 12,23 $\pm$ 4,39 <sup>bc</sup>  | 17,55 $\pm$ 5,80 <sup>ab</sup> | 15,59 $\pm$ 9,22 <sup>ab</sup>  | 14,94 $\pm$ 5,92 <sup>ab</sup>  | 24,89 $\pm$ 4,64 <sup>a</sup> |
| <b>Taxa de crescimento específico (% dia<sup>-1</sup>) **</b> | 2,06 $\pm$ 0,94 <sup>ab</sup>  | 1,59 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>    | 1,82 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>  | 1,98 $\pm$ 0,20 <sup>ab</sup>   | 2,04 $\pm$ 0,55 <sup>ab</sup>   | 2,19 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>  |

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p < 0,05).

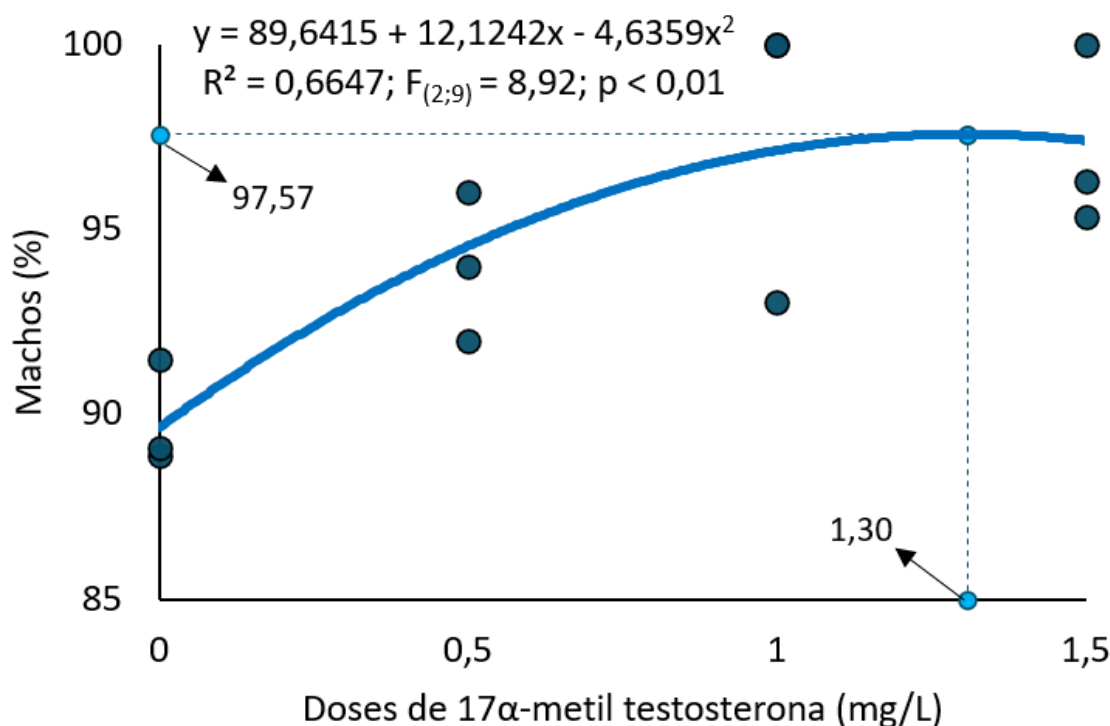
Variáveis analisadas pelo teste de Kruskal–Wallis.

\*\* Variáveis analisadas por ANOVA, seguida do teste de Duncan

#### 4.2 Experimento 02: diferentes doses do hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona

Os resultados obtidos para a taxa de masculinização da tilápia-do-Nilo apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $p < 0,01$ ), conforme indicado pela análise de regressão polinomial de 2ª ordem (Figura 7). Observou-se um aumento progressivo na proporção de machos com o incremento das doses de 17 $\alpha$ -metiltestosterona, (17 $\alpha$ -MT), sendo o ponto ótimo estimado em 1,30 mg L<sup>-1</sup>, correspondente a 97,57% de machos. O modelo ajustado apresentou coeficiente de determinação,  $R^2 = 0,6647$ , valor de  $F_{(2,9)} = 8,91$  e  $p < 0,01$ , demonstrando ajuste significativo e representativo da variação dos dados, evidenciando que o aumento da dose hormonal explica de forma consistente a elevação na masculinização.

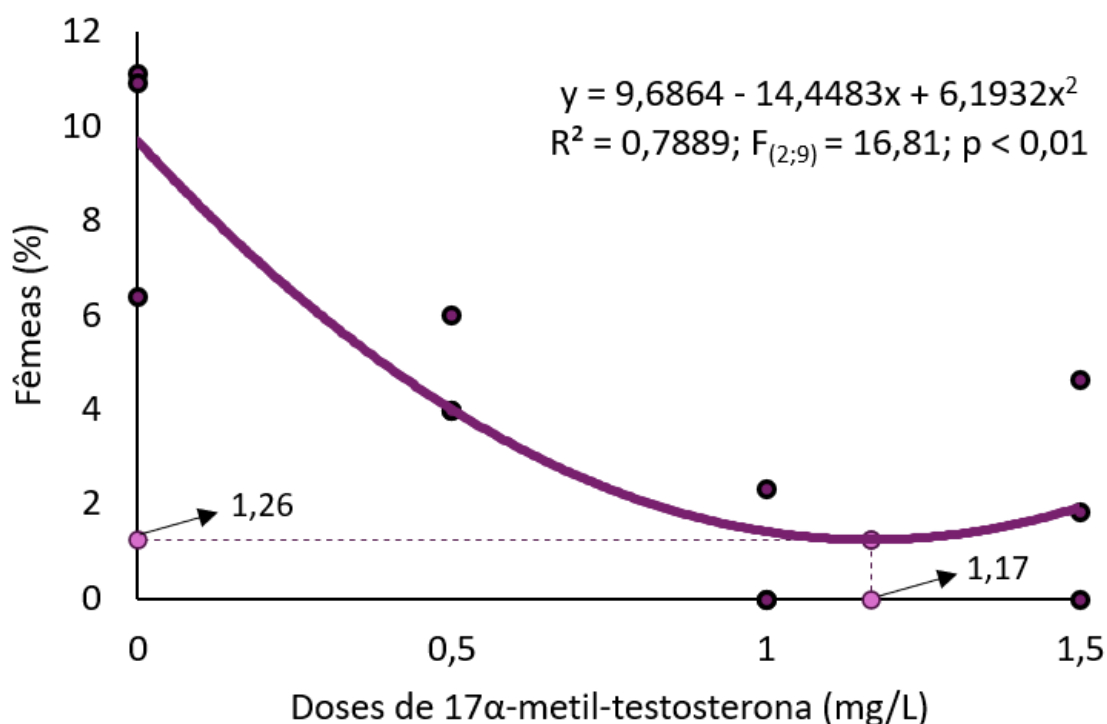
O tratamento controle, sem adição de hormônio (0,0 mg L<sup>-1</sup>), apresentou menor proporção de machos, sendo significativamente inferior aos demais tratamentos ( $p < 0,001$ ). A dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> resultou em uma masculinização superior ao controle, porém, com efeito intermediária quando comparada às demais concentrações. As doses de 1,0 mg L<sup>-1</sup> e 1,5 mg L<sup>-1</sup> proporcionaram as maiores taxas de masculinização, não diferindo estatística entre si. Esses resultados indicam que as doses de 1,0 mg L<sup>-1</sup> e 1,5 mg L<sup>-1</sup> aplicadas por banho de imersão são mais eficazes para promover a reversão sexual da tilápia-do-Nilo, enquanto a dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> apresenta eficiência intermediária. O grupo controle, por sua vez, apresentou baixa masculinização, evidenciando a necessidade do uso do hormônio para obtenção de populações predominantemente masculinas.



**Figura 7.** Taxa média masculinização (%) de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a diferentes doses 17α-metiltestosterona (17α-MT) aplicadas por banhos de imersão.

A proporção de fêmeas apresentou comportamento quadrático em função das doses de 17α-metiltestosterona ( $p < 0,01$ ), ajustando-se ao modelo  $\hat{y} = 9,6864 - 14,4483x + 6,1932x^2$  ( $R^2 = 0,79$ ). Observou-se redução progressiva no percentual de fêmeas à medida que a concentração hormonal aumentou. O modelo estimou o mínimo de 1,26% de fêmeas na dose de 1,17 mg L<sup>-1</sup>, indicando o ponto de maior eficiência de masculinização dentro do intervalo avaliado.

Esses resultados evidenciam o efeito direto do hormônio sobre a inversão sexual, uma vez que doses crescentes favorecem a diferenciação testicular e reduzem a ocorrência de fêmeas. A partir de doses de máxima resposta, observa-se tendência à estabilização, indicando que concentrações superiores próximas de 1,5 mg L<sup>-1</sup> não promovem ganhos adicionais expressivos na eficiência de reversão (Figura 7).



**Figura 8.** Taxa de média de fêmeas (%) de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). submetida a diferentes doses 17α-metiltestosterona (17α-MT) aplicadas por banhos de imersão.

A sobrevivência foi semelhante entre o grupo controle e os tratamentos com diferentes doses de 17α-metiltestosterona, não sendo observadas diferenças significativas entre as concentrações avaliadas ( $p > 0,05$ ).

Em contraste, o peso médio final diferiu entre os tratamentos, com melhor desempenho observado na dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, a qual apresentou valores superiores ao controle e à maior dose testada ( $p < 0,05$ ).

Padrão semelhante foi verificado para biomassa média, ganho de peso, consumo médio diário, conversão alimentar aparente (CAA) e eficiência alimentar (EA%), cujos melhores resultados também foram registrados na concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, conforme indicado pelas letras distintas atribuídas pelo teste de Duncan (Tabela 2).

Para as variáveis sobrevivência, comprimento médio final e taxa de crescimento específico (TCE%), não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), indicando que essas variáveis não foram influenciadas pelas doses de hormônio avaliadas.

**Tabela 2.** Análise de variáveis zootécnicas de tilápias-do-Nilo submetidas a diferentes concentrações de 17 $\alpha$ -metiltestosterona por banhos de imersão.

|                                             | <b>Controle (0,0)</b>           | <b>0,5 mg L<sup>-1</sup></b>    | <b>1,0 mg L<sup>-1</sup></b>   | <b>1,5 mg L<sup>-1</sup></b>    | <b>Valor de F e p</b>                |
|---------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Sobrevivência (%)</b>                    | 76,67 $\pm$ 5,33                | 79,44 $\pm$ 4,09                | 79,44 $\pm$ 0,66               | 81,67 $\pm$ 2,99                | F <sub>(3,8)</sub> =0,923; p=0,473   |
| <b>Peso médio final (g)</b>                 | 1,90 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>    | 2,31 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>    | 1,94 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>   | 1,79 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>    | F <sub>(3,8)</sub> =17,2; p=0,0007 * |
| <b>Biomassa média (g/cx)</b>                | 62,83 $\pm$ 2,65 <sup>b</sup>   | 192,77 $\pm$ 14,13 <sup>a</sup> | 157,60 $\pm$ 6,21 <sup>b</sup> | 146,27 $\pm$ 24,01 <sup>b</sup> | F <sub>(3,8)</sub> =44,3; p<0,0001 * |
| <b>Comprimento médio (cm)</b>               | 4,52 $\pm$ 0,11                 | 4,47 $\pm$ 0,24                 | 4,54 $\pm$ 0,04                | 4,50 $\pm$ 0,09                 | F <sub>(3,8)</sub> =0,158; p=0,922   |
| <b>Ganho de peso (g)</b>                    | 1,84 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>    | 2,25 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>    | 1,75 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>   | 1,74 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>    | F <sub>(3,8)</sub> =26,1; p=0,0002 * |
| <b>Consumo médio (g/dia)</b>                | 1,73 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>    | 2,13 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>    | 1,57 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>   | 1,47 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>    | F <sub>(3,8)</sub> =5,97; p=0,019 *  |
| <b>Conversão alimentar (CAA)</b>            | 0,93 $\pm$ 0,13                 | 0,76 $\pm$ 0,06                 | 0,83 $\pm$ 0,03                | 0,98 $\pm$ 0,10                 | F <sub>(3,8)</sub> =4,02; p=0,051    |
| <b>Eficiência alimentar (EA%)</b>           | 111,33 $\pm$ 12,06 <sup>b</sup> | 144,33 $\pm$ 12,50 <sup>a</sup> | 121,33 $\pm$ 4,16 <sup>b</sup> | 102,33 $\pm$ 10,79 <sup>b</sup> | F <sub>(3,8)</sub> =9,01; p=0,006 *  |
| <b>Taxa de crescimento específico (TCE)</b> | 7,67 $\pm$ 0,15                 | 7,87 $\pm$ 0,32                 | 7,77 $\pm$ 0,15                | 7,53 $\pm$ 0,25                 | F <sub>(3,8)</sub> =1,14; p=0,39     |

**Nota:** \*Letras diferentes na linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan (p < 0,05). Variáveis sem efeito significativo (p > 0,05) não apresentam letras indicativas.

#### *4.3 Parâmetros de qualidade da água*

A qualidade da água foi monitorada diariamente ao longo dos dois experimentos. De modo geral, os parâmetros físico-químicos avaliados mantiveram-se dentro das faixas recomendadas para o cultivo da tilápia-do-Nilo, conforme descrito por Kubitz (2003), indicando condições ambientais adequadas durante o período experimental.

Durante a fase de exposição das larvas às soluções hormonais por meio dos banhos de imersão, os valores de temperatura, oxigênio dissolvido, pH e amônia permaneceram estáveis e dentro dos limites considerados adequados para a espécie. Ressalta-se que, nesse período, os animais não foram alimentados, o que contribuiu para a ausência de acúmulo significativo de compostos nitrogenados na água.

Após a transferência dos peixes para o sistema de recirculação de água (RAS), os parâmetros permaneceram, em média, dentro das faixas recomendadas no Experimento 1. No entanto, foram observadas elevações pontuais nas concentrações de nitrito, que podem ter contribuído para a maior mortalidade registrada e para os valores elevados de conversão alimentar aparente em alguns tratamentos. Embora não seja possível estabelecer relação causal direta, esses fatores devem ser considerados na interpretação dos resultados zootécnicos obtidos.

No Experimento 2, os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se estáveis ao longo de todo o período experimental, sem registros de picos de amônia ou nitrito. Essas condições podem ter favorecido a maior sobrevivência e o desempenho zootécnico mais consistente observados entre os tratamentos avaliados.

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos da água registrados durante os Experimentos 1 e 2 estão apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos da água registrados durante os Experimentos 1 e 2 (média  $\pm$  desvio padrão).

| Parâmetro               | Experimento 1 (Média $\pm$ DP) | Experimento 2 (Média $\pm$ DP) |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Temperatura (°C)        | 25,95 $\pm$ 1,27               | 25,80 $\pm$ 1,38               |
| pH                      | 7,55 $\pm$ 0,32                | 6,78 $\pm$ 0,42                |
| Oxigênio dissolvido (%) | 6,3 $\pm$ 1,6                  | 9,0 $\pm$ 0,47                 |
| Amônia total (mg/L)     | 1,17 $\pm$ 1,36                | 0,21 $\pm$ 0,15                |
| Nitrito (mg/L)          | 1,91 $\pm$ 4,33                | 3,64 $\pm$ 6,27                |

**Nota:** Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão, com base nas coletas realizadas durante o período experimental; pH: Potencial hidrogeniônico; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: Nitrito; NH<sub>3</sub>: Amônia total; OD: Oxigênio dissolvido.

## 6. DISCUSSÃO

A ausência de um efeito linear claro do tempo de exposição ao banho de imersão com 17- $\alpha$ -metiltestosterona sobre o desempenho zootécnico e a proporção sexual das larvas de tilápia-do-Nilo indica que, dentro da faixa avaliada, a duração da imersão não foi determinante para promover ganhos adicionais consistentes em crescimento ou sobrevivência. Embora a análise de regressão tenha indicado tendência quadrática para a masculinização, os testes de comparação múltipla não separaram estatisticamente os tempos avaliados, sugerindo que a absorção do hormônio ocorreu de forma eficiente mesmo nos períodos mais curtos de exposição. Esse comportamento pode estar associado à elevada permeabilidade tegumentar característica da fase larval.

A proporção de machos manteve-se elevada em todos os tempos de exposição, concomitantemente à baixa ocorrência de indivíduos intersexo, evidenciando a eficiência da técnica de banho de imersão ao longo de todo o intervalo testado. Resultados semelhantes são descritos na literatura, a qual destaca a rápida incorporação hormonal nas primeiras horas de exposição, em função da intensa atividade metabólica e da elevada permeabilidade da pele das larvas (Bombardelli & Hayashi, 2005; Gale et al., 1999).

Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas consistentes entre os tempos avaliados, verificou-se que períodos intermediários mantiveram desempenho zootécnico adequado e taxas estáveis de masculinização. Esse comportamento indica que a ampliação do tempo de imersão não resulta em benefícios adicionais quando a concentração hormonal é suficiente para induzir a diferenciação sexual. Estudos prévios alertam que exposições excessivamente prolongadas podem aumentar o estresse fisiológico ou comprometer aspectos do desenvolvimento larval (Gale et al., 1999; Karaket et al., 2023).

Dessa forma, a masculinização por banho de imersão pode ser realizada dentro de uma faixa relativamente ampla de tempo, conferindo maior flexibilidade operacional ao manejo, sem prejuízo à eficiência do processo. Assim, a definição do tempo de exposição pode priorizar aspectos práticos, como logística,

padronização do manejo e redução da manipulação dos animais, desde que sejam mantidas condições adequadas de concentração hormonal e qualidade da água.

No Experimento 2, a maior biomassa observada nos peixes submetidos à dose de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  sugere que essa concentração favoreceu o crescimento e o acúmulo de biomassa, possivelmente em função do efeito anabólico do hormônio nas fases iniciais do desenvolvimento larval. Mainardes-Pinto et al. (2000) relatam que doses adequadas de esteroides podem estimular o crescimento sem comprometer o desempenho produtivo.

As variáveis peso médio final, ganho de peso e eficiência alimentar apresentaram diferenças significativas entre as doses avaliadas, com melhor desempenho observado na menor concentração testada. Esse resultado indica que doses reduzidas podem otimizar o aproveitamento do alimento e favorecer o crescimento, enquanto concentrações mais elevadas não necessariamente resultam em ganhos adicionais e podem, em alguns casos, limitar o desempenho zootécnico. Segundo Bombardelli e Hayashi (2005), a resposta ao uso de esteroides está diretamente relacionada à dose, ao tempo de exposição e à idade das larvas, o que explica a superioridade observada em doses intermediárias.

Resultados semelhantes foram descritos por Klipp et al. (2019), que observaram maiores taxas de crescimento específico em larvas submetidas a manejos alimentares adequados, com valores próximos aos encontrados neste estudo. A frequência alimentar adotada pode ter contribuído para a redução da competição entre os indivíduos, favorecendo o desempenho zootécnico e a sobrevivência.

A taxa de masculinização apresentou efeito significativo em função das doses de  $17\text{-}\alpha\text{-metiltestosterona}$ , com maior proporção de machos nas concentrações intermediária e mais elevada. O ajuste do modelo polinomial de segunda ordem evidenciou relação consistente entre o aumento da dose hormonal e a elevação da taxa de masculinização, permitindo a estimativa de um ponto ótimo próximo a  $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ . Estudos anteriores também relataram altas taxas de masculinização com doses superiores aplicadas por imersão, confirmando que a

resposta sexual é dependente da concentração hormonal (Afonso, 2003; Zanardi et al., 2007; Nguyen et al., 2003).

A redução progressiva da proporção de fêmeas com o aumento da dose reforça a eficiência da reversão sexual nas concentrações mais elevadas e indica que valores próximos a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  são suficientes para maximizar a masculinização, sem necessidade de incremento adicional de hormônio. Bombardelli e Hayashi (2005) destacam que o ajuste adequado da dose é fundamental para reduzir a ocorrência de indivíduos intersexo e otimizar o processo de reversão. Além disso, a técnica de banho de imersão apresenta menor risco de resíduos hormonais quando comparada à administração via ração, mantendo níveis abaixo dos limites de segurança alimentar (El-Sayed et al., 2020).

Outro aspecto relevante refere-se à identificação sexual precoce dos indivíduos. Diferentemente da sexagem macroscópica descrita por Wasserman e Afonso (2002) para peixes com peso superior a 0,5 g, neste estudo foi possível identificar o sexo em indivíduos de menor tamanho por meio de análise histológica com coloração em acetato carmim, evidenciando diferenciação gonadal aos 44 dias de idade.

Os parâmetros de qualidade da água permaneceram, em sua maioria, dentro das faixas adequadas para o cultivo da tilápia-do-Nilo. Apesar de valores pontuais de amônia e nitrito terem ultrapassado os limites recomendados, não foram observados efeitos negativos significativos sobre o crescimento e a sobrevivência dos peixes, possivelmente em função da curta duração dessas oscilações, da boa aeração e do manejo adequado do sistema de recirculação (Randall & Tsui, 2002; Borges et al., 2015; Dantas et al., 2019).

De modo geral, os resultados demonstram que o banho de imersão com 17- $\alpha$ -metiltestosterona constitui uma alternativa eficiente para a masculinização da tilápia-do-Nilo, mantendo o desempenho zootécnico, reduzindo a manipulação direta do hormônio e apresentando elevado potencial de aplicação prática e viabilidade econômica em sistemas produtivos.

## 7. CONCLUSÃO

Conclui-se que a reversão sexual da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de banhos de imersão com  $17\alpha$ -metiltestosterona é eficiente para a obtenção de populações predominantemente masculinas, sem prejuízo ao desempenho zootécnico nas condições avaliadas

No experimento que avaliou diferentes tempos de exposição, a duração do banho não influenciou de forma significativa a proporção sexual nem o desempenho zootécnico das larvas, indicando que a técnica é eficaz dentro da faixa de 12 a 60 horas. Considerando critérios de eficiência operacional e facilidade de manejo, o tempo de exposição de 36 horas mostrou-se adequado.

No experimento que avaliou diferentes concentrações hormonais, as doses de 1,0 e 1,5 mg L<sup>-1</sup> proporcionaram elevadas taxas de masculinização, sem diferença estatística entre si. Considerando a adoção da menor dose eficaz associada ao desempenho zootécnico observado, a concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> mostrou-se mais indicada para aplicação prática.

Dessa forma, recomenda-se o protocolo de imersão de larvas aos 10 dias pós-eclosão por 36 horas na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de  $17\alpha$ -metiltestosterona, por apresentar eficiência técnica, viabilidade operacional e potencial de aplicação em sistemas produtivos.

## 8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AFONSO, L. O. B.; LEBOUTE, E. M. Método para a sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4., 1993, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, 1993. p. 100–103.

ANDRADE, D. R. et al. Influência da ração e do hormônio 17 $\alpha$ -metiltestosterona sobre o desempenho e reversão sexual de *Oreochromis niloticus*. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 46, n. 4, p. e648, 2020. DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2020.46.e648>.

BEARDMORE, J. A.; MAIR, G. C.; LEWIS, R. I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems and prospects. *Aquaculture*, v. 197, p. 283–301, 2001.

BEARDMORE, J. A.; MCKENNA, P. F.; DEVLIN, R. H. Gender manipulation in tilapia: techniques, advantages and disadvantages. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MCDAND, B. J. (ed.). *Tilapia: biology, culture and nutrition*. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 303–317.

BENZIE, J. A. H. et al. Fish breeding and genetics: a blueprint for the future. Penang: WorldFish, 2021. Disponível em: <https://digitalarchive.worldfishcenter.org/handle/20.500.12348/5009>. Acesso em: 30 jun. 2025.

BORGES, A. C.; SILVA, R. J.; MOURA, L. B. Qualidade da água e desempenho de tilápia-do-Nilo em sistema de recirculação. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 41, n. 1, p. 173–182, 2015.

BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C. Determinação do período sensível à ação da 17 $\alpha$ -metiltestosterona durante a diferenciação sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 2, p. 321–327, 2003.

BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C. Masculinização de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de banhos de imersão com 17- $\alpha$ -metiltestosterona. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 2, p. 365–371, 2005.

BOMBARDELLI, R. A. et al. Efeito de diferentes períodos de exposição à 17 $\alpha$ -metiltestosterona por banhos na masculinização da tilápia-do-Nilo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 26, n. 3, p. 321–329, 2004.

BOMBARDELLI, R. A. et al. Performance of Nile tilapia larvae subjected to hormonal baths. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 33, n. 1, p. 1–8, 2007.

CADORIN, D. I. Efeito da frequência alimentar e taxa de arraçoamento no desempenho zootécnico, composição corporal e metabólitos plasmáticos em juvenis de tilápia-do-Nilo. 2020. 63 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

CARVALHO, E. D.; FORESTI, F. Reversão de sexo em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) induzida por 17- $\alpha$ -metiltestosterona: proporção de sexo e histologia das gônadas. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 56, n. 2, p. 249–262, 1996.

DANTAS, L. S.; SILVA, C. R. M.; MORAES, F. R. Efeito da amônia e do nitrito no desempenho de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, v. 12, n. 1, p. 9–18, 2019.

DIAS-KOBERSTEIN, T. C. R. et al. Reversão sexual de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de banhos de imersão em diferentes dosagens hormonais. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, v. 5, n. 4, p. 391–395, 2007.

EL-SAYED, A.-F. M. *Tilapia culture*. 2. ed. London: Academic Press, 2021.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Rome, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/publications/sofia/2022/en/>. Acesso em: 23 jun. 2025.

FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. *Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: AQUABIO, 2013.

FURUYA, W. M. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 6, p. 1912–1917, 2000.

GALE, W. L. et al. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture*, v. 178, p. 349–357, 1999.

GUERRERO, R. D.; GUERRERO, L. A. Effectiveness of 17 $\alpha$ -methyltestosterone on sex reversal of Nile tilapia fry in outdoor tanks. *Philippine Journal of Science*, v. 126, n. 3, p. 215–219, 1997.

KARAKET, T. et al. Optimization of immersion duration and androgen concentration for effective masculinization of Nile tilapia fry. *Aquaculture International*, v. 31, p. 1501–1513, 2023.

KLIPP, S. P.; PEREIRA, M. O.; JATOBÁ, A. Influência da frequência alimentar durante inversão sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Científica Rural*, v. 21, n. 1, p. 205–216, 2019.

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

KUBITZA, F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. 2. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2011.

MAINARDES-PINTO, C. S. et al. Efeito de banhos com metiltestosterona na reversão sexual da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 5, p. 1361–1366, 2000.

MEURER, F. et al. Frequência de arraçoamento sobre o crescimento e percentagem de machos durante a fase de reversão sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 13, n. 4, p. 1133–1142, 2012.

NGUYEN, M. D. et al. Sex reversal of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in 17 $\alpha$ -methyltestosterone solution. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 28, n. 1–4, p. 193–194, 2003.

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

RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*, v. 45, n. 1–12, p. 17–23, 2002.

SANTOS, D. C. et al. Métodos alternativos de masculinização de tilápia-do-Nilo: perspectivas para redução de impactos ambientais. *Aquaculture Research*, v. 54, n. 1, p. 112–124, 2023.

SILVA, J. A. M.; LUZ, R. K.; REZENDE, K. F. O. Qualidade da água e crescimento de tilápia-do-Nilo em diferentes densidades de estocagem em sistema de recirculação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, n. 12, p. 1322–1328, 2013.

WASSERMANN, G. J.; AFONSO, L. O. B. Validação da técnica do acetato-carmim para avaliar o sexo de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, v. 32, n. 1, p. 133–139, 2002.

ZANARDI, J. V. et al. Reversão sexual de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com metiltestosterona administrada por imersão e oralmente. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 29, n. 4, p. 409–414, 2007.