

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS EXPERIMENTAL DE REGISTRO

**REPRODUÇÃO ASSISTIDA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) POR MEIO DE
DIFERENTES INDUTORES**

LUKAS YUYA MAKINO

Registro – SP

Junho – 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS EXPERIMENTAL DE REGISTRO

**REPRODUÇÃO ASSISTIDA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) POR MEIO DE
DIFERENTES INDUTORES**

LUKAS YUYA MAKINO

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antônio Sanches

Trabalho de Graduação apresentado como requisito
parcial para a obtenção do título de Bacharel em
ENGENHARIA DE PESCA.

Registro – SP

Junho- 2025

M235r Makino, Lukas Yuya
Reprodução assistida de tilápia (*Oreochromis niloticus*) por meio de diferentes indutores / Lukas Yuya Makino. -- Registro, 2025
22 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira, Registro
Orientador: Eduardo Antônio Sanches

1. Indutores hormonais. 2. Qualidade de gametas. 3. Reprodução induzida. I. Título.

CERTIFICADO

TRABALHO DE GRADUAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

TÍTULO: "REPRODUÇÃO ASSISTIDA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) POR MEIO DE DIFERENTES INDUTORES"

ACADÊMICO: Lukas Yuya Makino

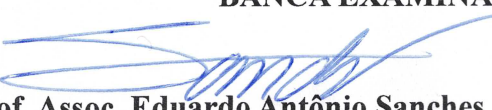
ORIENTADOR: Prof. Assoc. Eduardo Antônio Sanches

PERÍODO: 9º Semestre 5º Ano

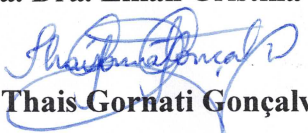
Aprovado: ☒

Reprovado: ☐

BANCA EXAMINADORA:


Presidente Prof. Assoc. Eduardo Antônio Sanches


Membro Profa. Dra. Lilian Cristina Makino


Membro Ma. Thais Gornati Gonçalves

Registro, 30 / 06 / 2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, *Georgina Hitomi Kishi Umemura* e *Tatsuo Umemura*, que sempre me apoiaram e me ensinaram o valor do respeito e da honestidade. Sou profundamente grato por todo o amor, incentivo e exemplo que me deram ao longo da vida.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto de uma caminhada repleta de desafios, aprendizados e conquistas. Sou imensamente grato a todos que estiveram ao meu lado durante essa trajetória.

Agradeço primeiramente a **DEUS**, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo desta jornada. Foi por meio da fé que enfrentei os desafios com coragem e esperança.

À minha família, em especial aos meus pais, **Georgina Hitomi Kishi Umemura** e **Tatsuo Umemura**, pelo amor incondicional, apoio constante e pelos valores que me transmitiram, como o respeito, a honestidade e a dedicação. Sem vocês, esta conquista não seria possível.

Ao meu Tio **Kahoru Kishi** por todo apoio e incentivo, que esteja em paz, onde quer que esteja.

Ao meu orientador, **Eduardo Antônio Sanches**, agradeço pela paciência, orientação, incentivo e pelas valiosas contribuições acadêmicas.

Aos amigos e companheiros de laboratório agradeço por toda ajuda e apoio que sempre me deram, **Gabriela, Janaína, Vinicius, Guilherme, Paulo, Ramon, Josiane, Alexa, Ana, Julia, Raquel** e **Edilson**, muito obrigado!

Ao meu amigo e companheiro **Cassiano**, agradeço pelo apoio, incentivo e por todos os momentos compartilhados, especialmente pelas inesquecíveis pescas que vivemos juntos.

A **Thais Gornati Gonçalves**, por ter cedido as matrizes para a realização da pesquisa, muito obrigado!

Aos **Professores do curso**, que, com dedicação e compromisso, foram fundamentais na construção do meu conhecimento ao longo da graduação.

Agradeço à **Universidade Estadual Paulista** por ter me acolhido ao longo de todos esses anos, proporcionando não apenas conhecimento, mas também crescimento pessoal e profissional.

E por fim agradeço a **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo**, pela concessão da bolsa para elaboração do trabalho, sendo fundamental para a conclusão do mesmo.

EPÍGRAFE

"O que está desenhado no coração se torna realidade."

(Sei Shōnagon)

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo realizar a reprodução assistida da tilápia-do-Nilo utilizando diferentes indutores hormonais. Foram selecionados 45 reprodutores (25 machos e 20 fêmeas), distribuídos em delineamento inteiramente com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos incluem: extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC – 5,5 mg/kg), sGnRHa+domperidona (Ovaprim® - 0,5 mL/kg), mGnRHa+metoclopramida (Ovopel®- 0,5 pellet/kg), Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG- CHORULON® - 1,5 UI/g) e controle (sem indução hormonal). Após a indução, os peixes foram mantidos em caixas de 25L (um peixe por caixa) até o início de desova espontânea, que ocorreu manualmente por meio do processo de extrusão. Foram feitas para os machos avaliação seminal por meio da cinética espermática, concentração, morfologia e integridade da membrana. Para as fêmeas foram feitas análises de taxa de fertilização, eclosão e fecundidade. Para a análise espermática realizada com o CASA não demonstrou diferença significativa entre os tratamentos em 10 e 50 segundos após ativação ($p>0,05$). Houve diferença significativa na concentração espermática entre o controle e Ovopel® ($p<0,05$). Para fertilização, apenas uma repetição experimental apresentou resultados positivos, com EBHC, hCG e Ovopel® alcançando 89%, 90% e 90% de fertilização, respectivamente. No entanto, apenas EBHC (0,3%) e Ovopel® (31%) resultaram em eclosão. Esses resultados indicam que, embora a tilápia apresente reprodução espontânea, a indução hormonal pode ser eficaz para sincronizar a reprodução e viabilidade para as fêmeas, podendo aplicar biotecnologias, sendo necessário otimizar protocolos para maximizar os índices produtivos

Palavras-chave: Indutores hormonais, Qualidade de gametas e Reprodução induzida.

ABSTRACT

The present study aimed to perform assisted reproduction of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using different hormonal inducers. A total of 45 broodstock (25 males and 20 females) were selected and distributed in a completely randomized design with four treatments and five replicates. The treatments included: carp pituitary extract (CPE – 5.5 mg/kg), sGnRHa + domperidone (Ovaprim® – 0.5 mL/kg), mGnRHa + metoclopramide (Ovopel® – 0.5 pellet/kg), human chorionic gonadotropin (hCG – CHORULON® – 1.5 IU/g), and a control group (no hormonal induction). After induction, the fish were kept individually in 25L tanks until the onset of spontaneous spawning, which was manually carried out through the extrusion process. For the males, semen evaluation included sperm kinetics, concentration, morphology, and membrane integrity. For the females, fertilization rate, hatching rate, and fecundity were analyzed. The sperm analysis performed using CASA showed no significant differences in sperm motility between treatments at 10 and 50 seconds post-activation ($p > 0.05$). However, a significant difference in sperm concentration was observed between the control and the Ovopel® treatment ($p < 0.05$). Regarding fertilization, only one experimental replicate yielded positive results, with CPE, hCG, and Ovopel® achieving 89%, 90%, and 90% fertilization, respectively. However, only CPE (0.3%) and Ovopel® (31%) resulted in hatching. These results indicate that although Nile tilapia is capable of spontaneous reproduction, hormonal induction can be an effective tool to synchronize spawning and improve reproductive viability in females. Nevertheless, protocol optimization is necessary to enhance productive performance and allow the successful application of reproductive biotechnologies in this species.

Key-words: hormonal inducers, gametes quality and induced reproduction.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. (A) Pesagem; (B) Indução hormonal por meio de injeções intramusculares.	13
Figura 2. (A) Coleta de sêmen a partir de uma seringa de 1mL; (B) Pesagem dos ovócitos; (C) Sistema de incubação de ovos.	14
Figura 3. (A) Espermatozoides normais em relação aos diferente indutores. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). (B) Concentração espermatica em relação oaos diferente indutores. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ($P > 0,05$) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância).	17
Figura 4. (A) Ovo fertilizado e não fertilizado (indicado pela seta); (B) Eclosão (cabeça e cauda proeminente).	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 10 segundos pós ativação de machos de *Oreochromis niloticus* com diferentes indutores..... 16

Tabela 2. Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 50 segundos pós ativação de machos de *Oreochromis niloticus* com diferentes indutores... **Error! Bookmark not defined.**

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
2.	OBJETIVO	11
3.	MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1.	<i>Local e seleção de indivíduos</i>	12
3.1.	<i>Indução Hormonal</i>	12
3.2.	<i>Delineamento Experimental</i>	14
3.3.	<i>Coleta de Gametas e Fertilização</i>	14
3.4.	<i>Análises Espermáticas</i>	15
3.5.	<i>Avaliação da Fecundidade</i>	15
3.6.	<i>Análise Estatística</i>	15
4.	RESULTADOS	15
4.1.	<i>Machos</i>	15
4.2.	<i>Taxa de fertilização, eclosão e fecundidade</i>	17
5.	DISCUSSÃO	18
6.	CONCLUSÃO	20
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A produção de organismos aquáticos vem ganhando espaço no mercado mundial, superando até mesmo a quantidade capturada em ambiente natural. Dentre os principais peixes produzidos, a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresenta grande importância econômica na atividade da piscicultura, posicionada em 3º lugar no *ranking* mundial (FAO, 2025), em 1º lugar do total de peixes produzidos no Brasil, representando em 2024 cerca de 662.230 toneladas e correspondendo a 68,36% do total produzido em território nacional (PEIXE BR, 2025).

A tilápia-do-Nilo possui características biológicas, produtivas e econômicas que favorecem sua criação, pois apresenta alto desempenho zootécnico, crescimento acelerado, rusticidade e excelente aceitação no mercado, o que impulsiona sua ampla utilização em sistema de produção aquícola (TUZINE et al. 2022; PIAMSOMBOON et al. 2019).

Para que a reprodução de *O. niloticus* ocorra em ambiente natural, é necessário que o macho construa o ninho no sedimento e a fêmea deposite os oócitos neste ninho, no qual o macho realizará a fertilização e a fêmea incubará os ovos na boca, evidenciando um comportamento de cuidado parental. Em cativeiro a maior parte da reprodução é feita de forma espontânea em hapas instalados em viveiros escavados. Nesse sistema os reprodutores são separados em uma proporção de duas a três fêmeas para um macho (LIMA et al, 2013). Após sete a dez dias são coletados os ovos da boca das fêmeas e colocados em incubadoras até a eclosão das larvas (SILVA et al., 2015). Como *O. niloticus* é uma espécie que não realiza migração reprodutiva, não há necessidade de indução hormonal, diferente das espécies nativas migradoras em que a prática de indução é rotineira e necessária para a reprodução em cativeiro (MECHALY et al., 2023).

A indução hormonal interfere em diferentes níveis do processo reprodutivo e pode ser realizada com o uso de hormônios exógenos, como o extrato de hipófise, análogos de GnRH, antagonistas de dopamina e alguns produtos sintéticos comerciais (CARVALHO, 2016). Destacam-se para isso, o extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), o Ovopel® (análogo do GnRH de mamíferos + metoclopramida) e o Ovaprim® (análogo sintético de GnRH de salmão + Domperidona) (MECHALY et al., 2023), que podem ser aplicados com sucesso para peixes migradores, mas há uma escassez de informações sobre essas eficiências para a tilápia, especialmente com relação às respostas às diferentes indutores, momento da desova e qualidade dos gametas.

Apesar da tilápia apresentar reprodução natural, a indução hormonal reprodutiva pode ser utilizada estrategicamente quando há necessidade de controle preciso do momento da desova. Esse controle é fundamental para a aplicação de biotecnologias reprodutivas, como a manipulação de ploidia, fertilização *in vitro*, produção de lotes sincronizados, programas de melhoramento genético e edição genômica (WU et al., 2023). Além disso, há possibilidade de controle do tempo pós-fertilização para aplicação de técnicas de resfriamento de embriões (MARIA e CARNEIRO, 2012) ou até mesmo para cruzamento direcionado de peixes selecionados (LEONHARDT et al., 2006). Portanto, quando relacionamos a aplicação de hormônios indutores para a tilápia, as informações são limitantes e não convencionais como observado, destacando a necessidade de estudos adicionais para conhecer as respostas desta espécie em função da aplicação de hormônios reprodutivos.

2. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo verificar a eficiência, qualidades de gametas e produtividade de larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de diferentes indutores hormonais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e seleção de indivíduos

O estudo foi realizado nas dependências do laboratório de Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira – FCAVR, Unesp/Registro. Foram selecionadas 20 fêmeas obtidas da empresa S3 Piscicultura e 25 machos do plantel da Universidade e mantidos em um sistema de recirculação de água de 10 m³, alimentados diariamente até a saciedade com ração comercial extrusada 28% PB..

3.1. Indução Hormonal

Durante o período reprodutivo, os animais foram selecionados com base em características morfológicas e fisiológicas indicativas de maturidade sexual. As fêmeas foram consideradas adequadas quando apresentaram abdômen abaulado e macio, papila urogenital avermelhada e presença de oócitos em fase final de maturação. Os machos foram selecionados quando apresentaram liberação de sêmen ao aplicar uma leve pressão abdominal, caracterizando disponibilidade de sêmen viáveis para os ensaios (LIMA et al., 2013). Cada exemplar foi pesado individualmente e submetido à indução hormonal por meio de injeções intramusculares, com doses baseadas em protocolos aplicados a outras espécies de peixes tropicais, conforme descrito por Mechaly et al. (2023).

Foram utilizados cinco machos e quatro fêmeas, onde para os machos foram submetidos a cinco tratamentos sendo eles sem indução(controle), EBHC, Ovaprim®, Ovopel® e hCG, já para as fêmeas foram submetidas a quatro tratamentos sendo eles EBHC, Ovaprim®, Ovopel® e hCG(controle).

Para o tratamento com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), foi utilizada uma dose de 5,5 mg/kg, diluída em 0,5 mL/kg de solução salina (NaCl 0,9%), o tratamento com Ovaprim® dose de 0,5 mL/kg, equivalente a 10 µg/kg de sGnRH α + 5 mg/kg de domperidona. Para o Ovopel®, foi administrada uma dose de 0,5 pellet/kg, correspondente a 12,5 µg/kg de mGnRH α + 10 mg/kg de metoclopramida, diluído em 0,5 mL/kg de solução salina e o tratamento com gonadotrofina coriônica humana (hCG – CHORULON®) foi realizado com uma dose de 1,5 UI/g, conforme o protocolo descrito por Azevedo et al. (2020).

Nos machos, foram aplicadas doses únicas dos indutores EBHC, Ovaprim® e Ovopel®. Para o tratamento com hCG (CHORULON®), foram administradas duas doses: a primeira correspondente a 10% da dose total e a segunda, 90%, aplicada 24 horas após a primeira.

Nas fêmeas, foram aplicadas doses únicas de Ovaprim® e Ovopel®. Já para os tratamentos com hCG (CHORULON®) e EBHC, também foram utilizadas duas doses, sendo 10% da dose total inicialmente, seguida de 90% após 24 horas.

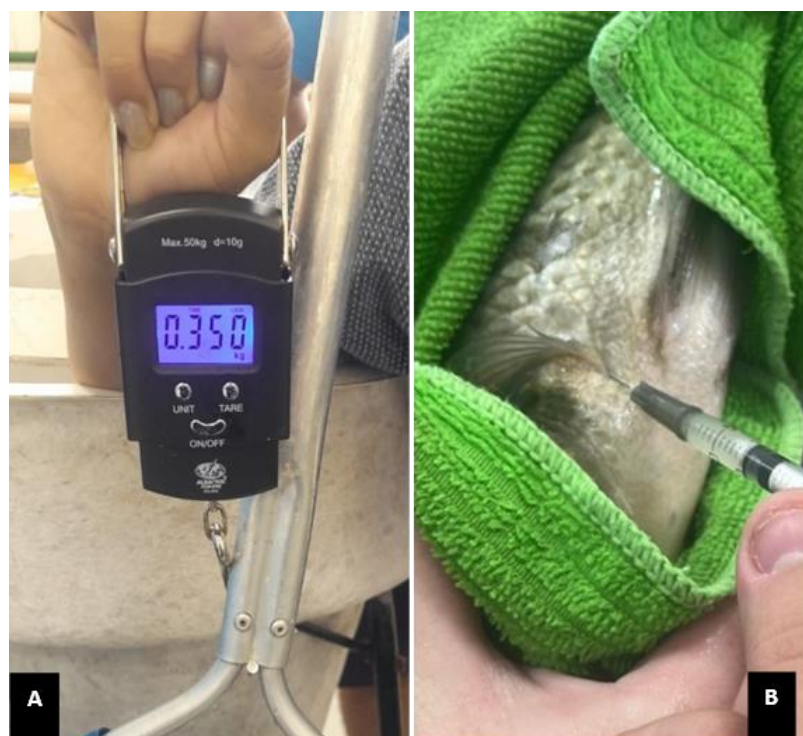


Figura 1. (A) Pesagem; (B) Indução hormonal por meio de injeções intramusculares.

3.1. Delineamento Experimental

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições (peixes). Cada unidade experimental consistiu de um único peixe (macho ou fêmea). Após a administração hormonal, um macho e uma fêmea foram mantidos em caixas retangulares com 25 litros de volume útil, em um sistema de recirculação de água fechado com 800 litros de volume total, sob monitoramento constante até o início da desova.

3.2. Coleta de Gametas e Fertilização

O sêmen foi coletado por meio de extrusão manual dos machos, massageando a área ventral no sentido cabeça-cauda. O material foi coletado em seringas de 1 mL para a quantificação do volume e mantido em uma caixa térmica com gelo até o momento da análise espermática. Após 24 horas da segunda indução, a fêmea foi contida, seca e submetida à extrusão manual dos ovócitos. Os ovócitos foram coletados em recipientes limpos e previamente pesados. Até o momento da fertilização, os ovócitos foram preservados em caixas térmicas com gelo a uma temperatura de 15 °C. Para a realização da fertilização artificial, foram utilizados peixes machos e fêmeas previamente tratados com o mesmo hormônio indutor. A fertilização foi realizada utilizando-se uma alíquota de 10 µL de sêmen para cada grama de ovócito. Depois de homogeneizados e seco, os espermatozoides foram ativados e a fertilização foi induzida com a adição de água (1 mL/g de ovócitos). Os ovos fertilizados foram incubados separadamente em incubadoras de 2 L e acompanhados para verificar as taxas de fertilização (depois de 8 horas) e eclosão (depois de 72 horas) (figura 2).

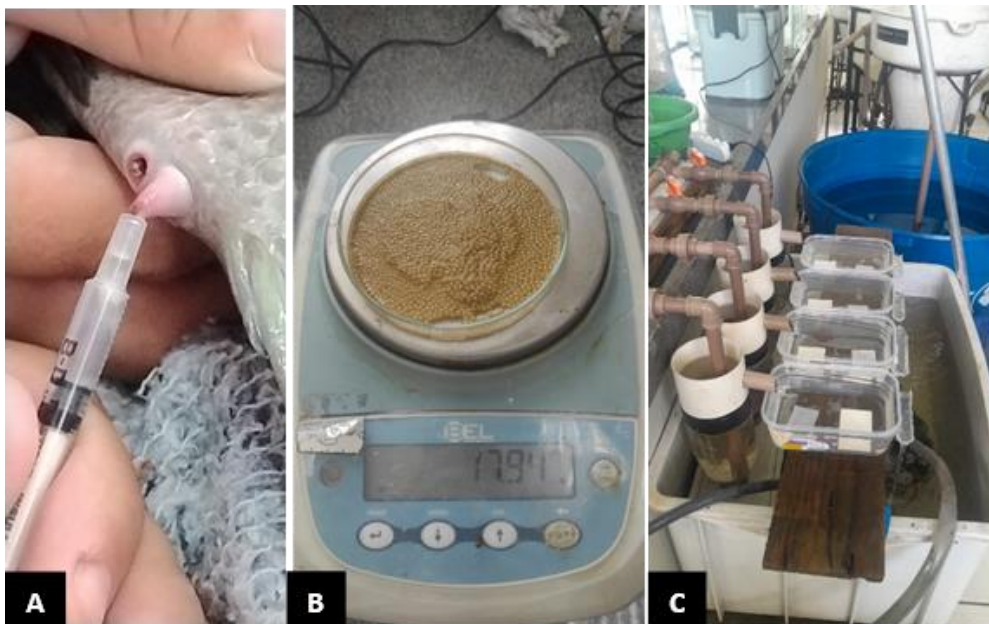


Figura 2. (A) Coleta de sêmen a partir de uma seringa de 1mL; (B) Pesagem dos ovócitos; (C) Sistema de incubação de ovos.

3.3. Análises Espermáticas

As análises de motilidade espermática foram realizadas 10 e 50 segundos após a ativação, com gravação de vídeos de 1 segundo a 100 fps. As imagens foram processadas e analisadas no software *ImageJ*, utilizando o plugin CASA (WILSON-LEEDY & INGERMANN 2007). Os parâmetros analisados foram percentual de motilidade espermática (MOT), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média de deslocamento (VAP), velocidade em linha reta (VSL), retilinearidade (STR), oscilação (WOB), progressão (PROG) e frequência do batimento transversal (BCF). Para análise da concentração espermática, 1 µL de sêmen foram diluídos em 1.000 µL de formol salino tamponado e analisado em câmara hematómica de Neubauer conforme Mylonas et al. (1997) e Sanches et al. (2011). Para índice de sobrevivência espermática, 5 µL de sêmen foram diluídos em 10 µL de eosina (3%) e 10 µL de nigrosina (5%) e feita a realização da mistura e posteriormente o esfregaço em lâmina de vidro. Os índices de alterações morfológicas foram avaliados usando, 1 µL de sêmen foram diluídos em 1.000 µL de formol salino e em seguida foi adicionado 10 µL de corante rosa de bengala e posteriormente uma gota de sêmen fixado e estirado em lâmina de vidro a um ângulo de 45°. Após o processamento das lâminas, três áreas com 200 espermatozoides foram analisadas em microscópio de luz (40x) (SANCHES et al., 2016).

3.4. Avaliação da Fecundidade

A fecundidade relativa foi determinada por meio da contagem de ovócitos coletados e pesados por fêmea. Utilizou-se uma amostra representativa de 0,5 g de ovócitos para estimativa da fecundidade e também foi também medido o tamanho do ovócito conforme adaptação de Valentin (2007) e Bombardelli et al. (2006).

3.5. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA *One-Way*) com nível de significância de 5%. Quando necessário, aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre médias. Para dados que não atenderam à normalidade, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao mesmo nível de significância.

4. RESULTADOS

4.1. Machos

O volume de semen encontrados para os tratamentos controle, EBHC, Ovaprim®, hCG e Ovopel® foi em média de os de $0,78 \pm 0,08$, $0,58 \pm 0,21$, $0,56 \pm 0,09$, $0,5 \pm 0,23$, $0,84 \pm 0,23$ respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos para todos os parâmetros espermáticos (Tabela 1) avaliados pelo ImageJ plugin CASA em 10 segundos pós-ativação espermática.

Tabela 1. Parâmetros espermáticos (média $\pm$ desvio padrão) em 10 e 50 segundos pós ativação de machos de *Oreochromis niloticus* com diferentes indutores.

INDUTORES	MOT	VCL	VAP	VSL	STR	WOB	PROG	BCF
Controle	88,8 $\pm$ 3,52	122,7 $\pm$ 11,5	57,3 $\pm$ 4,2	53,4 $\pm$ 4,2	93 $\pm$ 1,1	46,9 $\pm$ 4,3	839,5 $\pm$ 63,7	41 $\pm$ 2,1
EBHC	75,6 $\pm$ 19,14	112 $\pm$ 11,5	55 $\pm$ 5,0	51,8 $\pm$ 4,6	94,1 $\pm$ 0,7	49,2 $\pm$ 2,7	812,1 $\pm$ 74,9	42,9 $\pm$ 1,2
Ovaprim	73,6 $\pm$ 11,47	114,8 $\pm$ 10,4	56,9 $\pm$ 5,2	53,6 $\pm$ 4,7	94,1 $\pm$ 0,8	49,7 $\pm$ 3,3	839,4 $\pm$ 75,7	41,6 $\pm$ 3,2
Ovopel	63,5 $\pm$ 17,35	114,2 $\pm$ 9,5	55,3 $\pm$ 5,3	52,1 $\pm$ 4,9	94,1 $\pm$ 0,8	48,4 $\pm$ 2,8	818,4 $\pm$ 76,8	41,7 $\pm$ 2,8
hCG	84,2 $\pm$ 8,41	112,4 $\pm$ 10,9	55 $\pm$ 5,7	51,4 $\pm$ 5,3	93,5 $\pm$ 0,4	48,9 $\pm$ 1,2	807,2 $\pm$ 83,9	41 $\pm$ 2,3
t-valor	2,51	0,95	0,42	0,35	1,54	0,59	0,35	0,77
p-valor	0,08	0,46	0,79	0,84	0,24	0,67	0,84	0,56

Controle	66,2 $\pm$ 13,1	59,1 $\pm$ 7,7	27 $\pm$ 2,6	25,2 $\pm$ 2,7	92,9 $\pm$ 1,0	46,1 $\pm$ 3,5	394,8 $\pm$ 42,7	36,5 $\pm$ 2,2
EBHC	45 $\pm$ 16,9	51,5 $\pm$ 5,2	23,4 $\pm$ 1,8	21,8 $\pm$ 1,8	92,7 $\pm$ 1,1	45,5 $\pm$ 4,2	343,3 $\pm$ 28,7	38,5 $\pm$ 4,4
Ovaprim	46,8 $\pm$ 31,7	56,7 $\pm$ 10,5	26,2 $\pm$ 4,9	24,3 $\pm$ 5,2	91,9 $\pm$ 4,8	46,2 $\pm$ 2,5	381,5 $\pm$ 79,4	38 $\pm$ 5,8
Ovopel	33,8 $\pm$ 18	56,2 $\pm$ 5,7	24,8 $\pm$ 2,2	23 $\pm$ 2,5	92,7 $\pm$ 2,2	44,8 $\pm$ 3,7	372,8 $\pm$ 50,7	38,7 $\pm$ 5,1
hCG	58,7 $\pm$ 19,5	58,1 $\pm$ 5,8	27 $\pm$ 3,6	25,3 $\pm$ 3,6	93,3 $\pm$ 1,0	46,4 $\pm$ 2,7	395,4 $\pm$ 55,9	37,9 $\pm$ 1,2
t-valor	1,78	0,70	1,11	0,93	0,23	0,17	0,78	0,42
p-valor	0,18	0,60	0,39	0,47	0,92	0,95	0,56	0,79

($P>0,05$) indica que não houve diferenças significativas de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). Parâmetros espermáticos MOT: taxa de motilidade; STR: retilinearidade; VCL: Velocidade curvilinear; VAP: Velocidade média da trajetória; VSL: Velocidade em linha reta; WOB: Oscilação; PROG: Progressão; BCF: Frequência do batimento transversal.

Para espermatozoides normais (Figura 5A) Observou-se que houve diferença ($P<0,05$) entre o controle e o tratamento Ovopel® apresentando média de 43,43 $\pm$ 6,11 e 30,4 $\pm$ 4,14, respectivamente. Os tratamentos com EBHC, hCG e Ovaprim® com valores de 29,83 $\pm$ 0,86, 39,57 $\pm$ 2,08 e 34,07 $\pm$ 4,77 não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre si, nem em relação ao controle e ao tratamento com Ovopel®.

Para concentração espermática (Figura 5B) foram encontradas diferenças significativas entre o controle e o tratamento Ovopel® com valores médios de 1,43E⁺⁰⁹ $\pm$ 9,60E⁺⁰⁸ e 3,00E⁺⁰⁸ $\pm$ 9,01E⁺⁰⁷, respectivamente. Já para os tratamentos com EBHC, hCG e Ovaprim® com valores 5,30E⁺⁰⁸ $\pm$ 1,90E⁺⁰⁸, 8,80E⁺⁰⁸ $\pm$ 4,98E⁺⁰⁸ e 4,30E⁺⁰⁸ $\pm$ 1,14E⁺⁰⁸. Para sobrevivência espermática não foram encontradas diferenças significativas para o controle, EBHC, Ovaprim®, hCG e Ovopel® com valores médios de 85,37 $\pm$ 9,42%,

71,63±6,22%, 76,27±9,62%, 76,17±13,16% e 74,03±12,54%, respectivamente.

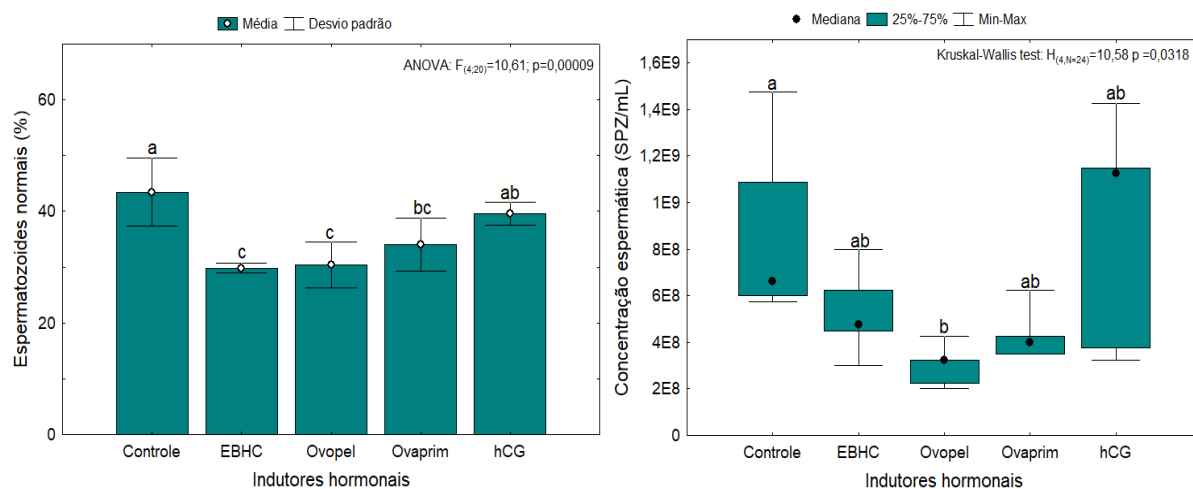


Figura 3. (A) Espermatozoides normais em relação aos diferente indutores. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa ($P < 0,05$) de acordo com o teste de comparação de médias de tukey (5% de significância). (B) Concentração espermática em relação aos diferente indutores. Letras diferentes sob as barras indicam diferença significativa ($P > 0,05$) de acordo com a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis.

4.2. Taxa de fertilização, eclosão e fecundidade

Para o diâmetro dos ovócitos as amostras de EBHC, Ovaprim®, hCG e Ovopel® com valores médios de 2,4±2,18, 3,1±1,74, 2,3±2,11, e 3,8±0,14, respectivamente.

Em relação à taxa de fertilização, observou-se que apenas uma das cinco repetições experimentais apresentou resultados expressivos. Nessa repetição, três indutores hormonais obtiveram taxa de fertilização: EBHC com 89%, hCG com 90% e Ovopel® com 90%,

demonstrando desempenho semelhante entre os tratamentos nesse parâmetro (figura 4A).

No entanto, ao se considerar a taxa de eclosão, apenas os tratamentos com EBHC e Ovopel® apresentaram resultados, com 0,3% e 31%, respectivamente (figura 4B). Para a fecundidade não obteve-se dados significativos.

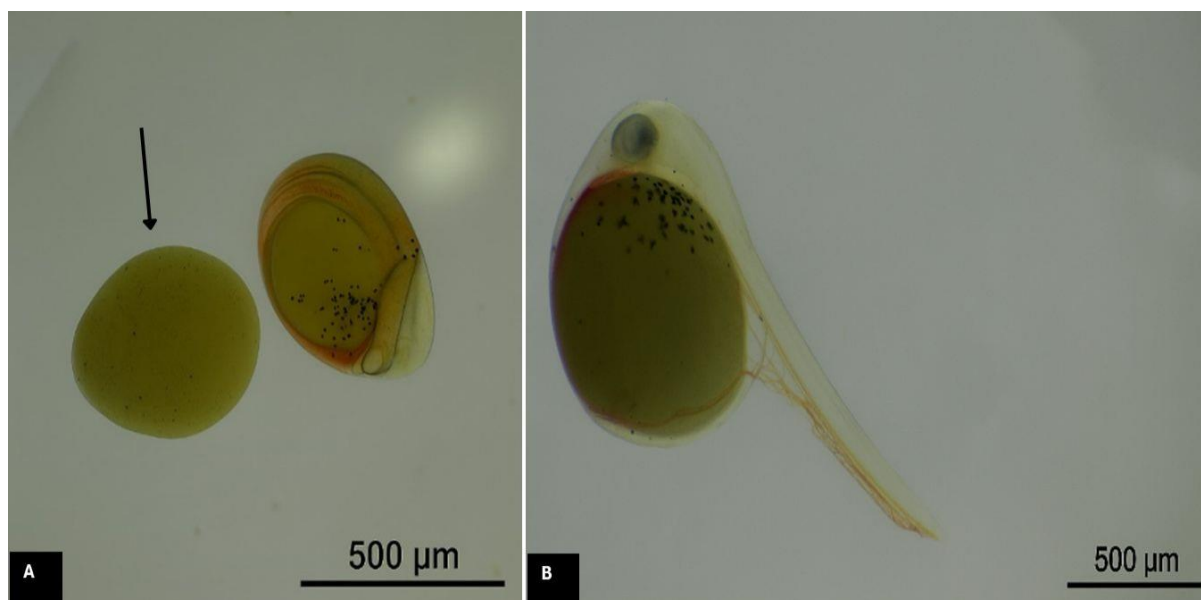


Figura 4. (A) Ovo fertilizado e não fertilizado (indicado pela seta); (B) Eclosão (cabeça e cauda proeminente).

Fonte: Acervo pessoal de Janaína et al

5. DISCUSSÃO

Com relação a sua reprodução, seu padrão de desenvolvimento ovariano do tipo assíncrono, ou seja, em um mesmo ovário é possível encontrar oócitos em diferentes fases de desenvolvimento. Essa característica impede uma desova única e total, o que resulta em varias desovas durante seu ciclo reprodutivo (COWARD & BROMAGE, 2000; FERNANDES et al., 2013; YOSHIDA et al., 2015). Como consequência, tornase um desafio, para aplicação de biotecnologias como fertilização *in vitro*, manipulação de ploidia, produção de famílias homogêneas e melhoramento genético (WU et al., 2023; SOUZA et al., 2016; PAULINO et al., 2016).

Para realização de reproduções artificiais, é comum usar indução hormonal com hCG, um dos métodos mais utilizados para tilápia. Há evidências de que o hCG ajuda a promover a maturação final dos ovócitos, estimulando tanto a ovulação quanto a espermiacção (Valentin, 2007; FERNANDES et al., 2013; AZEVEDO et al., 2020; MECHALY et al., 2023). No entanto, estudos recentes têm mostrado que doses elevadas de hCG, como 3 UI·g⁻¹, não

garantem a sincronização na desova durante a reprodução natural e podem até diminuir a quantidade de larvas produzidas, quando comparadas a situações sem o uso de hormônios, como apontado por Azevedo et al. (2020).

Nesse cenário, o estudo adotou uma dose menor de $1,5 \text{ UI} \cdot \text{g}^{-1}$, que se mostrou mais promissora na literatura, e comparou com outros indutores, como o Ovopel®, que promovem a liberação de gonadotrofinas endógenas e estimulam tanto a espermição quanto a ovulação (MECHALY et al., 2023).

Nos testes de motilidade espermática feitos com o auxílio do software CASA, observamos que, aos 10 e 50 segundos após a ativação, não houve diferenças significativas entre os tratamentos hormonais em relação aos parâmetros analisados, como motilidade, velocidade curvilínea (VCL), retilinearidade (STR) e progressão (PROG), entre outros.

Na análise da concentração de espermatozoides, notou-se uma variação de $3,00 \times 10^8$ à $1,43 \times 10^9$ spz/mL, com uma notável diferença entre o tratamento com Ovopel® e o grupo controle. Ainda que estes valores sejam mais baixos que a média apresentada por SANCHES et al. (2011) (chegando a $5,2 \times 10^9$ spz/mL), os resultados estão em linha com a variação natural que se espera entre diferentes indivíduos e diferentes métodos experimentais. Esta comparação realça que, mesmo utilizando métodos analíticos diferentes, a concentração de espermatozoides pode ser bastante afetada por fatores tanto fisiológicos quanto hormonais e do meio ambiente.

Para sobrevivência total dos espermatozoides normais, verificou-se que não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, com as médias oscilando entre 71,63% e 85,37%. Isso indica que, mesmo que a quantidade de espermatozoides possa ter variado em certos casos, a saúde geral deles foi mantida em todos os grupos. Esses números se alinham com pesquisas anteriores, como as de Bombardelli et al. (2010) e Sanches et al. (2011), que também apontaram alta vitalidade espermática em tilápias, mesmo com diferentes abordagens hormonais ou nutricionais.

Para fertilização e eclosão notou-se que apenas um dos cinco ensaios mostrou dados relevantes sobre a taxa de fertilização, sendo que os indutores hormonais EBHC, hCG e Ovopel® atingiram, 89%, 90% e 90%, respectivamente. No entanto, quando analisada a taxa de eclosão, os resultados foram mais limitados, com apenas os tratamentos EBHC (0,3%) e Ovopel® (31%) apresentando valores positivos. Esses dados evidenciam que, embora a fertilização possa ocorrer de forma satisfatória, outros fatores como a qualidade dos ovócitos, a sincronia entre gametas, as condições de incubação e o manejo pós-fertilização desempenham

um papel crucial na viabilidade embrionária até a eclosão. Ao comparar esses resultados com os encontrados por Valentin (2007), as taxas de eclosão foram significativamente superiores, mesmo com uma variação individual entre as fêmeas. Isso demonstra que, sob condições bem controladas e com manejo adequado, é possível obter alta fertilização e eclosão, mesmo utilizando hormônios como hCG.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos apontam que a tilápia-do-Nilo responde de forma variável à indução hormonal, dependendo do indutor utilizado e das condições fisiológicas dos reprodutores. Embora os parâmetros espermáticos tenham sido semelhantes entre os tratamentos, o grupo controle apresentou melhores índices de concentração e sobrevivência espermática, sugerindo que a indução hormonal não é necessária para esses parâmetros. No entanto, os indutores hCG, EBHC e Ovopel mostraram-se eficazes na fertilização, destacando seu potencial para aplicações específicas, como reprodução assistida e biotecnologias reprodutivas. Assim, o uso estratégico desses hormônios pode contribuir para o aprimoramento dos protocolos de reprodução e para o desenvolvimento da aquicultura de precisão na espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, É. R. et al. Attempt to produce a Nile tilapia tetraploid line by heat shock induction. *Aquaculture*, v. 529, p. 735647, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735647>.

AZEVEDO, R. O. et al. Uso do hormônio HCG na reprodução natural de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). 2020. <http://hdl.handle.net/1843/34443>.

BOMBARDELLI, R. A. et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, p. 1251-1257, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000500001>.

BOMBARDELLI, R. A. et al. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de tilápia-do-

nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 941-949, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000500001>.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 10, p. 1-25, 2000. <https://doi.org/10.1023/A:1008942318272>

CARVALHO, H. R. Status da reprodução de espécies nativas de peixes do Brasil. 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/156565>.

FAO. *Fishery and Aquaculture Statistics – Yearbook 2022*. Rome: FAO, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cd4312en>.

FERNANDES, A. F. A. et al. Production of oocytes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) for in vitro fertilization via hormonal treatments. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 48, n. 6, p. 1049-1055, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.12212>.

LEONHARDT, J. H. et al. Características morfométricas, rendimento e composição do filé de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, da linhagem tailandesa, local e do cruzamento de ambas. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 27, n. 1, p. 125-132, 2006.

LIMA, A. F. et al. Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes. In: LIMA, A. F. et al. *Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos*. Brasília-DF: EMBRAPA, 2013. p. 301-322.

MARIA, A. N.; CARNEIRO, P. C. F. Criopreservação de sêmen de peixes no Brasil: estado da arte e perspectivas futuras. *Ciência Animal*, v. 22, n. 1, p. 124-131, 2012.

MECHALY, A. S. et al. Spawning induction for Latin American fishes. *Reviews in Aquaculture*, v. 16, n. 1, p. 337-356, 2024. <https://doi.org/10.1111/raq.12841>.

MYLONAS, C. C. et al. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with hCG. *Aquaculture*, v. 153, n. 3-4, p. 301-313, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00021-5).

PAULINO, M. S. et al. Assessment of Gametes in Tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects of Body Weight in a New Lineage. *Journal of Fisheries Sciences. com*, v. 10, n. 2, p. 63, 2016.

PEIXE BR. Anuário Peixe BR da piscicultura 2025. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2025/>. Acesso em: 12 mai. 2025.

PIAMSOMBOON, P. et al. Assisted reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Milt preservation, spawning induction and artificial fertilization. *Aquaculture*, v. 507, p. 139-143, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.019>

SANCHES, E. A. et al. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermatócrito. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 1163-1167, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600001>.

SANCHES, E. A. et al. Inseminating dose and water volume applied to the artificial fertilization of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae): Brazilian endangered fish. *Neotropical Ichthyology*, v. 14, p. e140158, 2016. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140158>.

SILVA, G. F. d et al. Tilápia-do-Nilo: Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná. Curitiba: GIA, 2015.

SOUZA, U. N. et al. Influence of application time and genetic variability in tilapias *Oreochromis niloticus* submitted to hormonal induction with hCG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 68, p. 215-223, 2016.

TUZINE, T. A. R. et al. Hormonal induction and synchronization in the reproduction of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Boletim de Indústria Animal*, v. 79, p. 1-14, 2022. <https://doi.org/10.17523/bia.2022.v79.e1509>

VALENTIN, F. N. Efeito da idade das matrizes de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* no desenvolvimento embrionário e larval. 2007. 43 f. Dissertação (Mestrado em

Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
<http://hdl.handle.net/11449/86724>.

WILSON-LEEDY, J. G.; INGERMANN, R. L. Development of a novel CASA system based on open-source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, v. 67, n. 3, p. 661-672, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>.

WU, Y. et al. Generation of fast growth Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by myostatin gene mutation. *Aquaculture*, v. 562, p. 738762, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738762>.

YOSHIDA, G. M. et al. Reproduction performance of female Nile tilapia under different environments and age classes. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 37, n. 3, p. 221-226, 2015.