

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO**  
**TOCANTINS**  
**CAMPUS PALMAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA**

**RAYLLANE CASTRO PEREIRA**

**SEXAGEM MOLECULAR EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) IMATURAS:**  
**PERSPECTIVAS PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADOR VIA SISTEMA**  
***AMH/AMHΔY***

**PALMAS - TO**  
**2025**

**RAYLLANE CASTRO PEREIRA**

**SEXAGEM MOLECULAR EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) IMATURAS:  
PERSPECTIVAS PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADOR VIA SISTEMA  
*AMH/AMHΔY***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Bacharelado em Engenharia Agrônômica, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins – *Campus* Palmas, como exigência à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Dr. Antônio Carlos Silveira Gonçalves

Coorientador: Dr. Eduardo Sousa Varela

**PALMAS – TO  
2025**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas do Instituto Federal do Tocantins**

---

P436s Pereira, Rayllane Castro  
SEXAGEM MOLECULAR EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)  
IMATURAS: PERSPECTIVAS PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR  
MARCADOR VIA SISTEMA AMH/AMHΔY. / Rayllane Castro Pereira.  
– Palmas, TO, 2025.  
49 p. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) –  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins,  
Campus Palmas, Palmas, TO, 2025.

Orientador: Dr. Antônio Carlos Silveira Gonçalves  
Coorientador: PhD Eduardo Sousa Varela

1. Tilápia-do-Nilo. 2. Sexagem molecular. 3. Marcadores  
moleculares. I. Silveira Gonçalves, Antônio Carlos. II. Sousa Varela,  
Eduardo. III. Título.

**CDD 630**

---

A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica do IFTO com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS  
CAMPUS PALMAS - TO  
COORDENAÇÃO DO CURSO SUPERIOR BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRONÔMICA

**RAYLLANE CASTRO PEREIRA**

**SEXAGEM MOLECULAR EM TILÁPIAS (OREOCHROMIS NILOTICUS)  
IMATURAS: PERSPECTIVAS PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADOR  
VIA SISTEMA AMH/AMHΔY**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior Bacharelado em Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - *Campus* Palmas - TO, como exigência à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Aprovado em: 16 de dezembro de 2025.

**BANCA AVALIADORA**

**Prof. Dr. Antônio Carlos Silveira Gonçalves**

(Orientador)

IFTO *Campus* Palmas - TO

**Prof. Dr. Clauber Rosanova**

IFTO *Campus* Palmas - TO

**Profa. Dra. Maria Lucimar de Oliveira Souza**

IFTO *Campus* Palmas - TO

**Dr. Eduardo Sousa Varela**

(Coorientador)

Embrapa Pesca e Aquicultura



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Carlos Silveira Gonçalves, Servidor**, em 16/12/2025, às 11:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Lucimar de Oliveira Souza, Servidor**, em 16/12/2025, às 11:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Clauber Rosanova, Servidor**, em 16/12/2025, às 11:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **EDUARDO SOUSA VARELA, Usuário Externo**, em 16/12/2025, às 18:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3010420** e o código CRC **710EDE85**.



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS

Campus Palmas 310 Sul, Av. LO 5, s/n, esquina com a Avenida NS 10 - Plano Diretor Sul —  
CEP 77021-090 Palmas/TO - portal.ifto.edu.br — reitoria@ifto.edu.br

**Referência:** Processo nº 23236.025222/2025-33

SEI nº 3010420

Dedico este trabalho aos meus pais Raimundo e Cleiane, pelo apoio incondicional e por nunca medirem esforços para a realização deste sonho, ao meu namorado Giubiran e aos meus irmãos, Gabriel e Morgana.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela benção de conseguir conquistar esse sonho no qual carrego em meu coração desde muito pequena. Agradeço por sempre me dar forças para correr atrás dos meus objetivos e por acalmar o meu coração sempre que coloco os meus joelhos no chão. Obrigada pelo dom da vida, sabedoria, humildade e persistência.

Agradeço aos meus pais, que foram a base e o alicerce para a realização deste sonho. Sou muito grata a vocês pelo apoio, compreensão e incentivo diário. Do fundo do meu coração, muito obrigada por abdicarem dos seus desejos para que eu criasse asas e pudesse voar! Prometo sempre honrá-los, todos os dias da minha vida.

Agradeço ao meu namorado Giubiran Sena, pelo apoio e companheirismo constante durante todos esses anos de faculdade. Em você eu pude encontrar forças, coragem e incentivo para seguir em busca dos meus sonhos.

Agradeço aos meus irmãos Gabriel e Morgana pelo apoio e por sonharem essa conquista junto comigo. Obrigada por acreditarem em mim, celebrarem cada conquista e estarem presentes de maneira tão verdadeira. Este trabalho também é de vocês.

Agradeço ao meu orientador Dr. Antônio Gonçalves, pela troca e ensinamentos no decorrer do curso, você sem dúvidas foi uma peça chave para a conclusão da minha graduação. Agradeço também ao meu coorientador Dr. Eduardo Varela, pela oportunidade e confiança depositada a mim na condução deste projeto.

Agradeço ao meu supervisor Dr. Geice Sousa por todo apoio, troca, conversas, mentoria, compreensão, companheirismo e disponibilidade constante no decorrer do desenvolvimento deste trabalho. Sua orientação, profissionalismo e confiança fez total diferença no meu desempenho acadêmico.

Agradeço aos meus amigos de vida e faculdade, Laura Sousa, Deborah Cardoso e Pedro Henrique Sousa, não tenho dúvidas de que a caminhada se tornou mais leve com o apoio e incentivo de vocês. Jamais me esquecerei do quanto foi bom dividir essa caminhada e as minhas manhãs de estudo com cada um. Obrigada por toda troca durante esses anos!

Agradeço também aos meus colegas Ana Clara Dionísio, Maria Eduarda Cordeiro, Felipe Goulart, Michelly Martins, Luíz Henrick, Marcus Vinicius Cardoso e Sabrina Sena.

Saibam que tê-los nessa caminhada foi essencial para que este momento tão sonhado chegasse. Obrigada pelas manhãs de muitas risadas, conversas, incentivo e troca de conhecimento.

As minhas colegas da Embrapa que se tornaram grandes amigas, Ana Beatriz Barbosa, Kércia Sabino, Izadora Lindoso e Mykauana Alves, obrigada por todo apoio, palavras de incentivo e companheirismo durante este período em que estive no laboratório K. Agradeço também a minha colega de trabalho Jucélia Denise, por todo suporte prestado durante a construção deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos de vida Renata Amorim, Andrey John, Maurício Ferreira, Matias Maurício e Karina Araújo, por contribuírem de forma especial para que essa etapa fosse mais leve e significativa.

Agradeço às instituições de fomento FAPT, CNPq, EPAGRI e a Embrapa Pesca e Aquicultura que tornaram possível a realização deste trabalho. O apoio financeiro concedido foi essencial para o desenvolvimento das atividades de pesquisa e estrutura necessária para à execução deste projeto. Manifesto minha gratidão pelo compromisso dessas instituições com a ciência, a inovação e a formação de novos pesquisadores, reconhecendo que sua contribuição foi determinante para a concretização deste estudo.

Por fim, agradeço a todos os meus professores, e as pessoas que de forma direta ou indireta fizeram parte dessa trajetória. Obrigada por toda contribuição, apoio e incentivo! Sem vocês eu não teria me tornado metade do que sou hoje. A todos, meu sincero muito obrigada.

"Porque dele, e por ele, e para ele são todas as coisas".

Romanos 11:36

## RESUMO

A compreensão da determinação sexual em *Oreochromis niloticus* é crucial na aquicultura por impactar produtividade, manejo e melhoramento genético. A preferência por lotes monossexo (machos) deve-se à maior produtividade, uniformidade e controle reprodutivo. Embora possuam sistema XX/XY, fatores genéticos de regiões autossômicas (LG1, LG3, LG20, LG23) e ambientais, como a temperatura, influenciam o sexo, podendo causar inversão sexual. Esse conhecimento permite aplicações de ferramentas tecnológicas voltadas ao cultivo, como seleção de reprodutores YY, produção de lotes monossexo sem hormônios e controle das proporções sexuais. Este trabalho busca avaliar a eficácia do sistema *amh/amhΔy* na identificação do sexo genético de tilápias imaturas, verificar se a morfologia genital externa subestima o número de fêmeas e validar marcadores moleculares do gene *amh* (e sua variante *amhΔy*) para sexagem molecular na linhagem GIFT de *Oreochromis niloticus*. Foram analisados 1017 juvenis de *Oreochromis niloticus*, de seis grupos genéticos (1A, 1B; 2A, 2B; 3A, 3B; 4A, 4B; 5A, 5B; 6A, 6B), criados sob manejo padronizado. Cada peixe foi identificado com PIT-tag e submetido à sexagem fenotípica (inspeção das papilas genitais) e genotípica (marcadores *amh/amhΔy*). O DNA foi extraído dos tecidos de nadadeiras, e a genotipagem realizada via Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) com primers específicos. Os amplicons foram visualizados por eletroforese em gel de agarose, e a leitura das bandas definiu o sexo genético: machos, com *amh* e *amhΔy* presente (XY; dupla banda), e fêmeas quando apenas o *amh* presente (XX; única banda). Também foram avaliados ganho de peso diário, peso corporal e taxa de crescimento. Machos apresentaram maior ganho de peso diário, peso corporal e leve superioridade na taxa de crescimento, com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,001$ ). A sexagem fenotípica mostrou viés para machos (73,2%), enquanto a genotípica indicou proporção equilibrada (52,2% fêmeas, 47,8% machos). A análise de resíduos confirmou a validade de testes paramétricos, embora a sexagem fenotípica tenha desviado da normalidade. A matriz de confusão da sexagem mostrou acurácia de 69,5%, kappa de 0,402, sensibilidade para fêmeas de 90,6% e especificidade para machos de 61,8%, com curva ROC indicando boa capacidade discriminativa do marcador *amh/amhΔy* (AUC = 0.7618). Por grupo genético, a sexagem genotípica manteve proporções sexuais próximas de 1:1. Os dados gerados reforçam a confiabilidade do método frente a variações entre linhagens e possíveis efeitos ambientais nas proporções sexuais. Dessa forma, conclui-se que os marcadores genéticos (*amh/ amhΔy*) fornecem sexagem eficiente, precisa e biologicamente coerente (razão ~1:1).

**Palavras-chave:** Marcadores genéticos. Sexagem molecular. Tilápia-do-Nilo.

## ABSTRACT

Understanding sex determination in *Oreochromis niloticus* is crucial in aquaculture because it impacts productivity, management, and genetic improvement. The preference for monosex (male) stocks is due to higher productivity, uniformity, and reproductive control. Although Nile tilapia exhibits an XX/XY system, genetic factors from autosomal regions (LG1, LG3, LG20, LG23) and environmental factors, such as temperature, influence sex, potentially causing sex reversal. This knowledge enables the application of technological tools for farming, such as the selection of YY breeders, production of monosex stocks without hormones, and control of sex ratios. This study aims to evaluate the effectiveness of the *amh/amhΔy* system for identifying the genetic sex of immature tilapia, determine whether external genital morphology underestimates the number of females, and validate molecular markers of the *amh* gene (and its variant *amhΔy*) for molecular sexing in the GIFT strain of *Oreochromis niloticus*. A total of 1,017 juveniles from six genetic groups (1A, 1B; 2A, 2B; 3A, 3B; 4A, 4B; 5A, 5B; 6A, 6B) were analyzed under standardized management. Each fish was identified with a PIT tag and subjected to phenotypic sexing (inspection of genital papillae) and genotypic sexing (using *amh/amhΔy* markers). DNA was extracted from fin tissue, and genotyping was performed through Polymerase Chain Reaction (PCR) with specific primers. Amplicons were visualized by agarose gel electrophoresis, and band patterns determined genetic sex: males, with both *amh* and *amhΔy* present (XY; double band), and females, with only *amh* present (XX; single band). Daily weight gain, body weight, and growth rate were also evaluated. Males showed higher daily weight gain, body weight, and slightly superior growth rate, with statistically significant differences ( $p < 0.001$ ). Phenotypic sexing showed a male-biased distribution (73.2%), while genotypic sexing indicated a balanced ratio (52.2% females; 47.8% males). Residual analysis confirmed the validity of parametric tests, although phenotypic sexing deviated from normality. The confusion matrix for sexing showed an accuracy of 69.5%, a kappa of 0.402, female sensitivity of 90.6%, and male specificity of 61.8%. The ROC curve indicated good discriminative capacity of the *amh/amhΔy* marker (AUC = 0.7618). Across genetic groups, genotypic sexing maintained sex ratios close to 1:1. The data reinforce the reliability of the method despite lineage variation and possible environmental effects on sex ratios. Therefore, it is concluded that the genetic markers (*amh/amhΔy*) provide efficient, accurate, and biologically consistent sexing (~1:1 ratio).

**Keywords:** Genetic markers. Molecular sexing. Nile tilapia.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Tilápia Tailandesa ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	17
<b>Figura 2</b> - Peixe tilápia Vermelha ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), variedade colorida .....	18
<b>Figura 3</b> - Peixe tilápia, linhagem GIFT ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	19
<b>Figura 4</b> - Dimorfismo sexual da tilápia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	21
<b>Figura 5</b> - Fêmea de tilápia realizando incubação oral dos ovos.....	22
<b>Figura 6</b> - Estrutura do gene <i>AMH</i> e <i>AMHY</i> em peixe-rei da Patagônia.....	26
<b>Figura 7</b> - Diagrama mostrando o processamento do <i>AMH</i> . .....	27
<b>Figura 8</b> - Diagrama detalhado mostrando a região putativa de determinação sexual XX/XY no LG23 do GIFT.....	29
<b>Figura 9</b> - Protocolo de extração de DNA genômico total .....	33
<b>Figura 10</b> - ilustração do processo de PCR (Reação da Cadeia de Polimerase).....	34
<b>Figura 11</b> - Gel de agarose com o produto de amplificação dos marcadores e sexo morfológico. A) <i>Amh<math>\Delta</math>y</i> (exon VII), B) <i>Amh</i> (exon 02) e C) Identificação do sexo morfológico .....	36
<b>Figura 12</b> - Representação da distribuição dos resíduos referente ao ganho e peso diário, ganho de peso final e taxa de crescimento considerando a sexagem genotípica (A) e fenotípica (B)	37
<b>Figura 13</b> - Gráfico da Proporção Sexual: Sexo G (Marcador) vs Sexo F (Morfologia) .....	38
<b>Figura 14</b> - Gráfico da Proporção Sexual por Grupo: Marcador (Genotípico) vs Morfologia (Fenotípico) .....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Espécies com produção de populações monossexo.....	23
<b>Tabela 2</b> - Relação de primers e programação utilizados para amplificar trechos do exon 0 e exon VII do gene <i>Amh/AmhΔy</i> .....	35
<b>Tabela 3</b> - Indicadores de desempenho do modelo de classificação .....	39

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 Objetivos.....</b>	<b>14</b>
1.1.1 Objetivo Geral .....	14
1.1.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Importância econômica da tilápia e as perspectivas para o estado de Tocantins .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Principais linhagens de tilápia cultivadas no Brasil.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Linhagem GIFT e o sucesso adaptativo e econômico na piscicultura brasileira .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Aspectos biológicos e comportamentais da tilápia do Nilo .....</b>	<b>20</b>
<b>2.5 Linhagem monossexo para o aprimoramento da tilapicultura .....</b>	<b>22</b>
<b>2.6 O papel do gene <i>AMH</i> na determinação sexual dos peixes .....</b>	<b>25</b>
<b>2.7 Seleção assistida por marcadores como estratégia para a produção de linhagens monossexo.....</b>	<b>29</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Montagem do experimento .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 Material biológico e extração de DNA genômico total.....</b>	<b>33</b>
<b>3.3 Sexagem molecular de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</b>	<b>34</b>
<b>3.4 Análise estatística.....</b>	<b>35</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>5 Considerações finais .....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A determinação sexual em tilápias, especialmente em *Oreochromis niloticus*, é um tema central para a aquicultura moderna porque influencia diretamente a produtividade, manejo reprodutivo e estratégias de melhoramento genético. Além do dimorfismo sexual em características econômicas, o setor valoriza fortemente a produção de lotes monossexo (geralmente machos), pois além do alto desempenho zootécnico, reduz reprodução indesejada em cultivo, aumenta uniformidade e facilita o manejo zootécnico. Em função disso, controlar o sexo fenotípico tornou-se um objetivo aplicado de primeira ordem para programas de melhoramento e para a indústria aquícola (PALAIKOSTAS et al., 2013, 2015). Dessa forma, as técnicas de inversão sexual, também conhecida como reversão sexual, tiveram uma importância fundamental para a evolução da tilapicultura, promovendo um crescimento no setor (GITHUKIA et al., 2015).

Do ponto de vista biológico, a tilápia do Nilo apresenta, em geral, um sistema de determinação XX/XY, contudo, outros fatores genéticos e ambientais modulam as proporções sexuais, o que explica variações expressivas em famílias e populações. Essa complexidade decorre de genes determinantes do sexo distribuídas em mais de um cromossomo (p.ex., LG1, LG3, LG20 e LG23) e de interações com temperatura durante a diferenciação gonadal. Em termos práticos, isso significa que o sexo fenotípico pode se dissociar do genótipo esperado em certas condições de criação, exigindo ferramentas moleculares e de manejo mais precisas (CÁCERES et al., 2018).

Uma das principais linhagens de tilápia criada no Brasil é a linhagem GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*), desenvolvida em 1998 pela *World Fish Center* por meio de cruzamentos sucessivos entre quatro linhagens de *O. niloticus* selvagens da África e quatro linhagens cultivadas na Ásia, sendo selecionadas para características produtivas pré-definidas (GUPTA & ACOSTA, 2004). Ela tem sido selecionada para ganho de peso ao longo dos anos, sendo estimado um acréscimo de 4% sobre a geração anterior (OLIVEIRA, 2013). O melhor desempenho produtivo, se deve ao fato das larvas serem 15 a 20% maiores e apresentarem maturação sexual tardia quando comparada a outras linhagens como a Chitralada, que mobiliza menos nutrientes para sua maturação (KUBITZA, 2000).

No âmbito do melhoramento genético e do manejo reprodutivo, a influência ambiental, especialmente a temperatura, interage com essa base genética e pode induzir inversão sexual. Dessa forma, o conhecimento de genes associados a determinação sexual principalmente

aqueles ligados ao LG23 (e, conforme a linhagem, ao LG1 ou a moduladores como LG20) possibilitam: (i) seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) para formação de reprodutores YY (super machos) e de lotes monossexo via acasalamentos dirigidos; (ii) redução da dependência de hormônios para masculinização; e (iii) diagnóstico e controle finos de proporções sexuais ao longo do ciclo produtivo. Entretanto, a diversidade de origens e histórias de seleção das linhagens exige validação prévia dos marcadores em cada população-alvo, pois o “locus majoritário” pode variar entre estoques. Em GIFT, por exemplo, o principal sinal reside no LG23, sustentando o uso de MAS para controle de sexo. Em alguns estoques o LG1 pode predominar, e moduladores adicionais devem ser monitorados. Assim, combinar genotipagem direcionada (especialmente na região *amh/amhy* do LG23) e acasalamentos racionais é a via mais robusta para consolidar sistemas de produção monossexo e elevar a eficiência zootécnica.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho produtivo em tilápias (*Oreochromis niloticus*) com base na sexagem assistida pelo marcador ligado à variante do gene *AMH*, o *AMHΔY*.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar se o sistema *amh/amhΔy* é capaz de classificar o sexo genético de tilápias imaturas com eficiência;
- Verificar se a morfologia gonadal externa de animais imaturos subestima o total de fêmeas;
- Validar marcadores moleculares disponíveis para a linhagem GIFT para a sexagem molecular em *O. niloticus* por meio do gene *AMH* e das suas variantes (*Amhy* e *AmhΔy*).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância econômica da tilápia e as perspectivas para o estado de Tocantins

A tilápia do Nilo destaca-se como espécie-chave na aquicultura mundial devido às suas características zootécnicas versáteis e relevância comercial. Segundo a FAO (2024), em 2024 foram produzidas 6,95 milhões de toneladas da espécie, resultado direto de sua

adaptabilidade a diversos sistemas de cultivo, eficiência alimentar e boa aceitação comercial (RODRIGUES et al., 2017; D'ABRAMO, 2025). É a segunda espécie de peixe mais produzida no mundo, sendo a Carpa a líder, em razão da larga produção de várias linhagens deste animal na China.

De acordo com dados atuais da Associação Brasileira de Piscicultura (PEIXEBR, 2024), o Brasil se coloca na posição de 4º maior produtor de tilápia do mundo, ficando atrás da China, Indonésia e Egito, superando com ampla vantagem de quase 90 mil toneladas, a Tailândia e as Filipinas. A espécie já representa 57% da produção nacional, com 432.149 toneladas produzidas em 2019, sendo o Espírito Santo responsável pela produção de 13.756 toneladas/ano, aparecendo entre os 10 maiores produtores nacionais (PEIXEBR, 2024).

Nesse cenário, a tilápia ampliou sua participação na produção brasileira de peixes de cultivo, em 2023, com 579.080 toneladas – crescimento de 5,28% em relação ao ano anterior – mostra levantamento da Associação Brasileira da Piscicultura (Peixe BR). Com esse resultado, a espécie passou a representar 65,3% do total nacional. No ano anterior, o país colocou no mercado 550.060 toneladas (63,93% do total) (PEIXEBR, 2024).

No âmbito da produção animal brasileira, o cenário no país está marcado pela ascensão da piscicultura, que vem se consolidando como o segmento que mais tem crescido e desenvolvido nos últimos anos. Desse modo, conforme observado por Medeiros et al. (2023), a piscicultura no Brasil é uma indústria relativamente jovem, mas tem sido o setor de produção animal que mais cresceu no país nos últimos anos. Esse crescimento pode ser atribuído, em parte, ao consumo ainda moderado de peixes no país, que é de aproximadamente 9,5 quilogramas por habitante por ano. Apesar do baixo consumo per capita, a previsão e o retorno financeiro da produção em larga escala de tilápia atraíram investimentos significativos. Nesse sentido, a Embrapa Pesca e Aquicultura relata que esse investimento na piscicultura está sendo realizado tanto por pequenos e médios produtores quanto por grandes empresas multinacionais. Grandes cooperativas e empresas que já tinham presença em outras áreas da produção animal, como aves e suínos, estão direcionando seus recursos para a produção de tilápia, aproveitando a experiência e a infraestrutura já estabelecidas em outros setores (EMBRAPA, 2022; ZAMPIERI, 2023).

Contudo, o Tocantins é uma das unidades federativas com maior potencial para o desenvolvimento da piscicultura, devido às suas características geográficas, disponibilidade hídrica, clima favorável e localização estratégica, fatores que facilitam a produção, o escoamento da produção e a aquisição de insumos (COSTA et al., 2023). Apesar disso, a produção de tilápia ainda é incipiente no território tocantinense, em razão da liberação recente

do cultivo desta espécie exótica, regulamentada apenas em 2018, pela Resolução nº 88 do Conselho Estadual do Meio Ambiente (COEMA) (TOCANTINS, 2018). Em 2024, o estado produziu cerca de 18.100 toneladas de peixes cultivados, sendo apenas 3,9% de tilápia. Em contraste, o Paraná, líder nacional, produziu 250.315 toneladas da espécie, no mesmo ano (PEIXEBR, 2025).

Nesse contexto, estudos realizados pela Embrapa Pesca e Aquicultura, revelam que a dinâmica produtiva da tilapicultura no Tocantins apresenta larga vantagem competitiva quando comparada aos principais polos nacionais, como São Paulo e Paraná. De acordo com a Secretaria da Agricultura, Pecuária e Aquicultura do Tocantins (SEAGRO, 2022), a tilápia se destaca como espécie preferencial para cultivo nos quatro grandes reservatórios federais alocados no Rio Tocantins (São Salvador, Peixe Angical, Lajeado e Estreito), que juntos apresentam capacidade de suporte estimada em 290 mil toneladas anuais. No entanto, a Embrapa enfatiza que apesar desse potencial, a cadeia produtiva ainda enfrenta gargalos estruturais, especialmente na logística de transporte, no escoamento para grandes centros consumidores devido a menor população e renda per capita do estado em comparação a regiões como o Paraná, e também na oferta limitada de alevinos. Dessa forma, um dos projetos que está em andamento na Embrapa, o Tilatech Recria, visa desenvolver um pacote tecnológico para a produção de juvenis de tilápia em tanques-rede, a fim de atender a demanda de produtores que buscam adquirir peixes já na fase juvenil, a partir de aproximadamente 50 g, adequados para a etapa de engorda (SANTOS, 2022). Essa estratégia reduz desafios operacionais associados ao manejo de alevinos, que requerem alimentação frequente e manutenção em estruturas de berçário. Assim, esses indicadores reforçam o crescimento expressivo da tilapicultura no estado e evidenciam sua consolidação como atividade estratégica para o setor aquícola regional.

## **2.2 Principais linhagens de tilápia cultivadas no Brasil**

O avanço da tilapicultura no mundo inteiro está levando a uma intensificação dos cultivos. Um dos sintomas desta intensificação é a busca por linhagens de performance superior (ZIMMERMANN, 2000). No Brasil, a tilápia foi introduzida pela primeira vez em 1953, quando a ‘‘Light’’, em São Paulo, importou a Tilapia rendalli (*Coptodon rendalli*) do Congo. Posteriormente, em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) introduziu exemplares da espécie tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) visando ao peixamento dos reservatórios públicos da Região Nordeste. Todavia, várias linhagens de tilápia nilótica têm surgido no mundo, dentre estas a Tailandesa ou Chitralada, a Vermelha e a

Genomar Supreme vêm merecendo especial atenção devido ao seu comportamento dócil e elevado potencial de produção (SANTOS, 2006).

A linhagem Tailandesa, também conhecida como Chitralada, já é bastante comum entre os produtores de alevinos. Essa variedade foi inicialmente desenvolvida no Japão e melhorada no Palácio Real de Chitralada na Tailândia. Esta linhagem foi introduzida no Brasil em 1996, por meio de alevinos doados pelo *Asian Institute of Technology* (AIT), e desde então, esta linhagem vem passando por contínuos processos de melhoramento genético no país. O peixe tailandês vem sendo intensamente manipulado (domesticado), há mais de 30 anos. Como resultado, apresenta taxas de alimentação mais elevadas, devido à docilidade e à avidez pelo alimento, observadas mais intensamente na população Chitralada, quando comparada às demais, mesmo lado a lado, em gaiolas flutuantes (ZIMMERMANN, 2000).

**Figura 1** - Tilápia Tailandesa (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: AQUAMINAS (2025).

Uma linhagem de relevante interesse comercial é a tilápia vermelha (Figura 2) que, segundo HILSDORF (1995), é um mutante genético surgido evolutivamente a partir de espécies do gênero *Oreochromis*. As espécies originais, *O. mossambicus*, *O. niloticus* e *O. honorum*, têm sido cruzadas com outras tilápias vermelhas de origens desconhecidas ou tipos selvagens de *Oreochromis sp.*, de modo que a composição genética da maior parte destas variedades, permanece indeterminada. De modo geral, apresentam maior tolerância à salinidade e menor resistência ao frio quando comparadas a tilápia do Nilo. Contudo, são consideradas menos produtivas, principalmente em função de sua baixa taxa de sobrevivência, agravada pelo aumento da predação por pássaros nos viveiros. A maior vantagem sobre a Tilápia do Nilo,

reside na melhor aceitabilidade por parte dos consumidores, que associam a coloração vermelha aos diversos peixes marinhos com coloração similar, pagando mais por quilo do produto (DOS SANTOS, 2006).

**Figura 2** - Peixe tilápia Vermelha (*Oreochromis niloticus*), variedade colorida



Fonte: Divulgação/AEN (2020).

Outra linhagem de tilápia recém introduzida no mercado brasileiro, foi a Supreme Tilápia, desenvolvida pela empresa Genomar, após mais de duas décadas de seleção genética. O plantel GST (*Genomar Supreme Tilapia*) é resultado do maior, mais caro e mais longo programa de melhoramento genético de tilápias, que teve início nas Filipinas na década de 80 a partir da linhagem, *Genetic Improved Farmed Tilapia* (GIFT) (ZIMMERMAN, 2003). No final da última década, a empresa norueguesa Genomar adquiriu todos os direitos de comercialização dos produtos gerados, bem como de todo o material genético produzido após a 10ª geração. Introduziu, também, grandes inovações no programa GIFT como a marcação dos animais através de seu próprio DNA, eliminando os erros de seleção (efeitos ambientais), além do mapeamento dos genes de maior importância da GST (ZIMMERMAN, 2003).

Desse modo, várias características conferem às tilápias a condição de um dos grupos de peixes mais amplamente cultivados no mundo. Estes animais alimentam-se da base da cadeia trófica, aceitam uma variabilidade de alimentos e respondem positivamente à fertilização dos viveiros. Além disso, são bastante resistentes a doenças, ao superpovoamento e a baixos níveis de oxigênio dissolvido. Somam-se a estas vantagens, suas boas características organolépticas, como a carne saborosa, baixo teor de gordura, ausência de espinhos intramusculares em forma de “Y” (mioceptos) e excelente rendimento de filé de aproximadamente 35 a 40% em exemplares, com peso médio de 0,45 kg (HILSDORF, 1995).

### **2.3 Linhagem GIFT e o sucesso adaptativo e econômico na piscicultura brasileira**

As tilápias (*O. niloticus*) são ciclídeos africanos que foram introduzidos no Brasil e se adaptaram a quase todo território nacional com faixa de temperaturas entre 14 a 33° C (RODRIGUES et al., 2013). São animais precoces, rústicos, suportam manejos intensivos e são mais resistentes a doenças (PEZZATO et al., 1986).

Das linhagens de tilápias que têm sido criadas no Brasil, entre elas destaca-se a GIFT (Figura 3) (*Genetic Improvement of Farmed Tilapia*) que tem sido utilizada por muitos piscicultores do estado do Paraná e São Paulo. Esta linhagem começou a ser desenvolvida a partir de um projeto mundial em que o principal objetivo era melhoramento genético de peixes tropicais (GUPTA & ACOSTA, 2004). Ainda de acordo com os autores, para que isso fosse estabelecido houve cruzamento entre quatro linhagens comerciais puras de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens selvagens comumente cultivadas na África. Ou seja, este programa envolveu quatro linhagens silvestres de tilápias capturadas em 1988-1989 no Egito, Gana, Quênia e Senegal, e quatro linhagens confinadas, introduzidas nas Filipinas de 1979 a 1984, de Israel, Singapura, Tailândia e Taiwan (BENTSEN, 1998).

**Figura 3 -** Peixe tilápia, linhagem GIFT (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: Autora (2025).

Desse modo, após a obtenção da variedade melhorada, a tilápia GIFT foi distribuída para quase todo o mundo, sendo criada em diferentes condições climáticas. A partir de um convênio realizado entre a Universidade Estadual de Maringá (UEM) e *WorldFish Center*, apoiado pela extinta Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP), atual Ministério de Pesca e Aquicultura (MPA), foram importados cerca de 600 animais de 30 famílias de tilápias do Nilo – GIFT, dando origem a um programa nacional de melhoramento genético, apoiado em parte pelo projeto SEG - AquaBrasil (RESENDE et al., 2010). Neste programa, o objetivo principal da seleção foi aumentar a taxa de crescimento corporal, sendo utilizado como critério

de seleção o ganho de peso médio diário, obtendo-se um ganho genético médio de 18% entre gerações (OLIVEIRA et al., 2013). Com a utilização deste animal, houve um acréscimo em termos de eficiência no sistema de produção saindo de uma condição em que eram produzidos peixes com peso final de 400 a 600 gramas após 6 a 8 meses de engorda para aqueles que produzem peixes com 800 g de peso em 4-6 meses, o que permite um ciclo produção a mais por ano na mesma área. Como impacto econômico observou-se um ganho na receita líquida de 22% em relação ao uso da tilápia não melhorada (FERNANDES, 2019).

O melhor desempenho produtivo da GIFT, se deve ao fato das larvas serem de 15 a 20% maiores e apresentarem maturação sexual tardia quando comparada a outras linhagens como a Chitralada, mobilizando menos nutrientes para a maturação (KUBITZA, 2000). A variedade tem grande potencial e aceitação no mercado consumidor, devido a boa qualidade da carne, apresenta pouca gordura tornando uma carne mais leve, com sabor suave e ausência de espinhas intermusculares (BOSCOLO, 2007). Esse sucesso crescente do programa, faz com que haja mais estudos e pesquisas, principalmente no desenvolvimento de novas variedades, pois ainda não existem estudos que avaliem se as características da carne da GIFT são transmitidas quando são cruzados com animais de outras variedades (RODRIGUES, 2024).

#### **2.4 Aspectos biológicos e comportamentais da tilápia do Nilo**

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) possui potencial econômico (FAO, 2018) devido a características como rápido crescimento, aceitação no mercado por ter a carne branca, leve e de sabor suave (LUND E FIGUEIRA, 1989) além de alta resistência a doenças e ao superpovoamento. Essa variedade apresenta atributos reprodutivos favoráveis aos programas de melhoramento genético, como alta prolificidade, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa elevada, desova frequente (HULATA et al., 1993) e disponibilidade de alevinos durante todo o ano nas regiões mais quentes do país (BOSCOLO et al., 2002). A maturidade sexual da tilápia ocorre quando o animal tem por volta de 30 g (DE GRAAF et al., 1999). Trata-se de um táxon que apresenta formação hierárquica social (presença de peixes dominantes e submissos) logo após as primeiras semanas de vida (HUNTINGFORD, 1986), o que ocasiona comportamento agonístico frente a coespecíficos, impactando não somente no bem-estar quanto na produção (MOYLE & CECH-JUNIOR, 1988).

A tilápia do Nilo possui o hábito de consumir fitoplâncton por meio de filtragem da água, com preferência por microalgas (LOURES et al., 2001). Dentro dos seus limites toleram diferentes condições de qualidade da água, suportam baixos níveis de oxigênio dissolvido,

tendo desenvolvimento sensivelmente afetado em concentração abaixo de 3,0 ppm. Em relação a intensidade de sua propagação, quando controlada, torna-se uma das espécies mais recomendadas para a piscicultura pois adapta-se facilmente às práticas de manejo alimentar e também tolera altas densidades de estocagem em sistemas intensivos de criação (SILVA et al., 2012).

A espécie possui dentes rudimentares nos lábios, intestino bastante longo, respiração do tipo branquial e o corpo coberto de escamas. Sua reprodução é do tipo parcelada, podendo desovar de 8 a 12 vezes no ano. A sua maturidade sexual está muito relacionada com o clima da região, condições de espaço, manejo e alimentação. Geralmente, começa a reproduzir-se por volta dos 4 a 5 meses de idade, colocando em média 800 a 2.000 óvulos/desova ou 4 a 5 óvulos  $g^{-1}$  de peso vivo de fêmea (OLIVEIRA et al., 2007).

A tilápia apresenta dimorfismo sexual, ou seja, possui presença de caracteres que distinguem morfologicamente machos de fêmeas. A existência da gônada masculina ou feminina é considerada como um dimorfismo sexual primário. Diferenças físicas externas entre os dois sexos podem existir ou não de acordo com a espécie de peixe. Se existirem, podem ser permanentes ou temporárias e são chamadas de dimorfismos sexuais secundários. As tilápias apresentam dimorfismo sexual secundário permanente, representado principalmente pela papila urogenital distinta entre os sexos (BORGES, 2004), o que facilita a separação entre os indivíduos. Entre as diferenças, é possível citar o número de orifícios na região ventral, cuja fêmea apresenta três orifícios (ânus, oviduto e uretra) e o macho apenas dois (ânus e orifício urogenital, sendo este último a abertura por onde passam urina e sêmen) (Figura 4). Além disso, as fêmeas reprodutoras apresentam menor porte que os machos da mesma idade e escurecimento na região gular (papo). Já os machos, quando preparados para a reprodução, podem apresentar coloração rosada na cabeça e na extremidade da nadadeira caudal e coloração azul/cinza na região abdominal (OLIVEIRA et al. 2007).

**Figura 4 - Dimorfismo sexual da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**



Fonte: Autora (2025).

As fêmeas pertencentes desenvolvem cuidados com a prole, de forma que após a fecundação recolhem os ovos com a boca (Figura 5), onde os mantém por cerca de sete a oito dias, durante o período de incubação e desenvolvimento das larvas. Nesse período, não se alimenta e, mesmo após os peixes adquirirem capacidade de natação e busca de alimento, ela continua dispensando cuidado com os filhotes por cerca de 20 dias, fazendo o recolhimento dos filhotes para a boca sempre que pressentir condições de perigo para eles (OLIVEIRA et al. 2007).

**Figura 5** - Fêmea de tilápia realizando incubação oral dos ovos



Fonte: Autora (2025).

### **2.5 Linhagem monossexo para o aprimoramento da tilapicultura**

O gonocorismo, que caracteriza aproximadamente 95% dos teleósteos, geralmente inclui uma desigualdade fenotípica entre machos e fêmeas da mesma espécie, principalmente na fase adulta (pós-púbere). Na piscicultura, essa diferença pode representar ganhos econômicos significativos, ou seja, pode haver uma agregação de valor ao produto se forem produzidos somente indivíduos do sexo com superioridade zootécnica. Tais características podem estar relacionadas com a taxa de crescimento, tempo de maturação e idade, forma ou coloração do corpo ou ainda composição da carcaça (ARAI, 2001; CNAANI E LEVAVI-SIVAN, 2009). Os estoques monossexo podem ainda ser vantajosos quando evitam a

reprodução descontrolada em cativeiro de engorda, resultando em lotes uniformes e, portanto, de alto valor comercial (CNAANI E LEVAVI-SIVAN, 2009; TURRA et al., 2010).

O controle do sexo em peixes é um procedimento relativamente simples e de fácil sucesso. Essa manipulação é possível porque a formação de ovários e testículos nesta classe é muito tardia e, em comparação com os mamíferos, a via de diferenciação sexual é um processo relativamente flexível que pode ser afetado por diferentes fatores endógenos e exógenos (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002).

O primeiro estudo experimental de inversão sexual de peixe foi realizado em 1954, por Yamamoto (1958) utilizando o *medaka Oryzias latipes*. No âmbito de espécie comercial, o primeiro trabalho foi com salmonídeos na década de 80 (DONALDSON e HUNTER, 1982), quando lotes exclusivos de fêmeas foram produzidos. Até o início do século XXI, mais de 60 espécies de teleósteos distribuídas em 16 famílias tinham sido invertidas sexualmente com o uso de esteroides sexuais, aproximadamente 16 andrógenos e 12 estrógenos (Tabela 1) (PIFERRER, 2001).

**Tabela 1 - Espécies com produção de populações monossexo**

Espécie	Sexo	Vantagem	Referências
<i>Anguilla anguilla</i>	F	Crescimento	Tzchori et al. (2004)
<i>Betta splendens</i>	M	Cor e nadadeiras	Kirankumar e Pandian (2002)
<i>Cyprinus carpio</i>	F	Crescimento	Grozea et al. (2007)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	F	Crescimento	Navarro-Martín et al. (2009)
<i>Epinephelus marginatus</i>	M	Reprodutores	Sanches et al. (2009)
<i>Gadus morhua</i>	F	Qualidade da carne	Lin et al. (2012)
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	F	Crescimento	Hendry et al. (2003)
<i>Ictalurus punctatus</i>	M	Crescimento	Davis et al. (2007)
<i>Lepomis macrochirus</i>	M	Crescimento	Wang et al. (2008)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	F	Crescimento	Razmi et al. (2011)
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	F	Crescimento	Hunter et al. (1983)
<i>Oreochromis niloticus</i>	M	Crescimento	Drummond et al. (2009)
<i>Paralichthys lethostigma</i>	F	Crescimento	Luckenbach et al. (2003)
<i>Poecilia latipinna</i>	M	Nadadeira dorsal	Kavitha e Subramanain (2011)
<i>Poecilia reticulata</i>	M	Cor e nadadeira	Basavaraja et al. (2014)
<i>Pomoxis nigromaculatus</i>	M	Crescimento	Arslan e Phelps (2004)
<i>Puntius gonionotus</i>	F	Crescimento	Pongthana et al. (1999)
<i>Rhamdia quelen</i>	F	Crescimento	Junior et al. (2008)
<i>Salmo salar</i>	F	Qualidade de carne	Lee et al. (2004)
<i>Scophthalmus maximus</i>	F	Crescimento	Piferrer et al. (2004)

Espécies de peixes em que há a produção (comercial ou experimental) de população monossexo. As letras F (feminino) e M (masculino) indicam o gênero superior zootecnicamente a ser produzido.

Fonte: Produção de populações monossexo em peixes (2016).

A criação de lotes masculinos é praticada em vários países, um exemplo clássico são as tilápias. Espécies desse gênero são altamente prolíferas nos tanques de piscicultura, gerando lotes com indivíduos de diferentes tamanhos. Como os machos apresentam crescimento mais

rápido que as fêmeas, os lotes exclusivos de machos não só evitam a reprodução indesejada como aumentam a produção (BOMBARDELLI et al., 2007; ZANONI et al., 2013).

O principal fator que contribuiu para o rápido desenvolvimento mundial da tilápia incluiu melhoramentos na qualidade das sementes (alevinos) por meio da adoção da tecnologia da inversão sexual na década de 1990 e a introdução de linhagens de tilápia do Nilo geneticamente melhoradas, tal como a Chitralada em 1996 e, alguns anos após, a linhagem GIFT (ROCHA; KUBITZA; COSTA, 2011).

A produção de lotes monossexo de peixes pode ser obtida por diversos meios, como: hibridização, manipulações genéticas, como ginogênese e androgênese, ou com o uso de esteróides sexuais. Ainda, em algumas espécies de peixe a masculinização é feita com a administração de inibidores de aromatase (por exemplo, Fradozole). A inibição dessa enzima, e consequente bloqueio da conversão de testosterona a estradiol, resulta em uma masculinização mais próxima à fisiológica se comparado à administração direta de andrógenos (REIS et al, 2016).

De acordo com o Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais (GIA, 2015), a formação de linhagens monossexo pode ser obtida por meio da ginogênese, quando a progênie possui apenas material genético da fêmea, ou androgênese, quando a progênie exhibe somente material genético do macho. A consecução de linhagens de tilápias de apenas um dos sexos, também pode ser obtida sem a manipulação cromossômica, através da inversão sexual.

Outro método de obtenção de plantéis monossexo é a produção de linhagens supermacho, que ocorre por meio de acasalamentos de peixes revertidos para a obtenção de linhagem YY. Na tilapicultura, a técnica é realizada da seguinte maneira: as larvas sexualmente indiferenciadas são alimentadas com ração contendo estrógeno, para gerar fêmeas invertidas, que na verdade são machos genotípicos (XY). Estes quando identificados depois de maduros, através da sexagem molecular, serão cruzados com machos normais, a progênie obtida consiste em 25% de fêmeas normais (XX), 50% de machos normais (XY) e 25% de supermachos (YY). Quando for realizado o cruzamento dos supermachos com fêmeas normais, a prole obtida é de 100% machos normais (GIA, 2015).

Contudo, além dos métodos já citados, o uso da temperatura na produção de alevinos machos de tilápia tem sido testado com bons resultados experimentais. A elevação da temperatura da água (35-37°C) nas fases iniciais de desenvolvimento das larvas dos peixes produz um efeito masculinizante. A proporção de machos produzidos varia de 80 a 100%, dependendo das espécies e das linhagens/famílias utilizadas, sendo necessários mais estudos para a aplicação comercial desse método (BORGES, 2019).

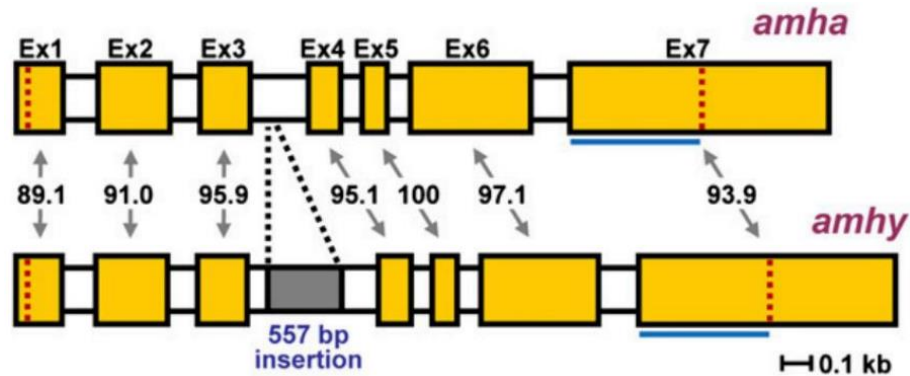
Nesse contexto, na piscicultura comercial a reprodução nos sistemas de cultivo tem se tornado um desafio, pois podem prejudicar o tamanho e o peso adequados para a comercialização (BORGES et al., 2005). Nas tilápias, características reprodutivas como: alta capacidade de reprodução, maturidade sexual precoce, fecundidade relativa elevada e desova frequente, têm levado a uma das principais dificuldades encontradas pelos criadores que é a superpopulação dentro dos viveiros de criação, o que prejudica a taxa de crescimento dos indivíduos (BORGES, 2005). Desse modo, busca-se na tilapicultura a criação de populações monossexo de machos, as quais são realizadas através da inversão sexual ainda na fase de pós-larva para produção de alevinos visando diminuir a proporção de fêmeas e melhorar o desempenho produtivo, garantindo a qualidade do lote. Isso se deve ao fato de os machos de tilápia apresentarem melhor crescimento e desempenho na engorda, enquanto as fêmeas direcionam suas reservas à reprodução e interrompem a alimentação durante a incubação bucal (BORGES, 2019). Desse modo, considerando os aspectos práticos e comerciais, para tilápia torna-se coerente o uso de tecnologias que favoreçam o sexo gonadal masculino de forma a minimizar o tempo de intervenção sobre os animais (DONALDSON, 1996).

## **2.6 O papel do gene *AMH* na determinação sexual dos peixes**

Os peixes possuem a maior diversidade e plasticidade de mecanismos de determinação do sexo dentro dos vertebrados (SANDRA & NORMA, 2010). Os estudos sobre determinação e diferenciação sexual em peixes representam uma área de estudo extremamente vasta, e são importantes por fornecerem uma rica fonte de dados para a compreensão dos caminhos evolutivos e a flexibilidade deste processo. Especialmente, porque os peixes ocupam uma posição basal na filogenia destes animais (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002).

O Hormônio Anti-Mülleriano (*AMH*) é uma glicoproteína membro da família TGF- $\beta$  (*transforming growth factor-beta*), que tem um papel chave na regressão do ducto de Müller durante a diferenciação sexual masculina em vertebrados tetrápodes (JOSSO et al., 2006). Em relação à sua estrutura, o *AMH* apresenta-se como um gene de cópia única nos vertebrados. Porém, em duas espécies de peixes teleósteos, peixe-rei da Patagônia (*Odontesthes argentinensis*) (HATTORI et al., 2012) e tilápia do Nilo (ESHEL et al., 2014), o *AMH* apresenta-se duplicado, neste caso esta segunda cópia, denominada *AMHY*, atua como determinante sexual (Figura 6).

**Figura 6** - Estrutura do gene *AMH* e *AMHY* em peixe-rei da Patagônia



Fonte: HATTORI et al. (2012).

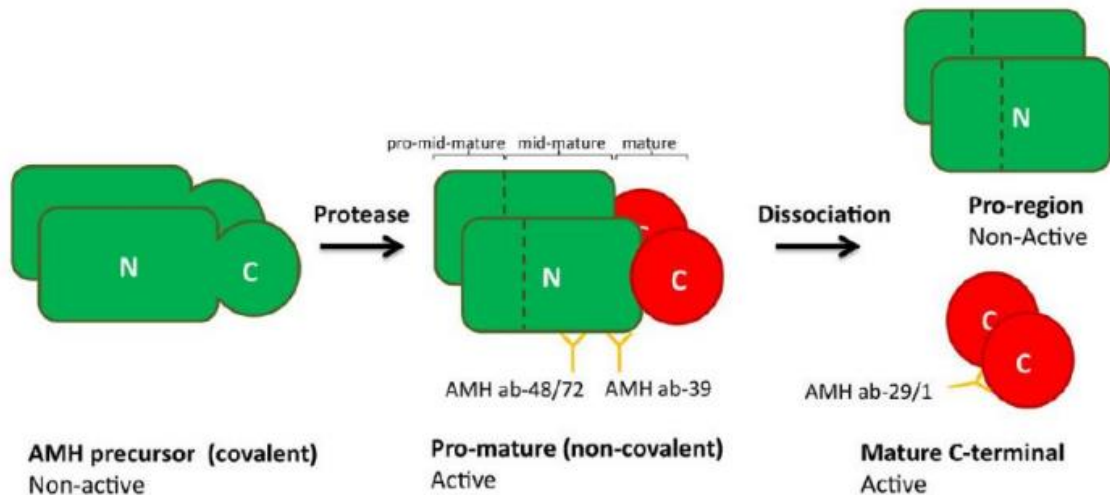
O gene *AMH* apresenta cinco éxons em mamíferos e aves, e sete éxons em peixes teleósteos. Em humanos e camundongos, a proteína formada contém 554 e 560 resíduos de aminoácidos, respectivamente. Em galinhas, são formados 644 e em peixes teleósteos 500, com exceção do peixe truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) que possui 571 resíduos de aminoácidos, codificados por seis éxons (RODRIGUEZ-MARI et al., 2005; HALM et al., 2007; KLUVER et al., 2007; JAMIN et al., 2008; HATTORI et al., 2012).

O *AMH* é secretado como um precursor homodimérico com tamanho de 140-kDa, o qual consiste em dois monômeros de 70-kDa cada. Ele é composto por uma região C-terminal madura com 25-kDa. Esta região se torna bioativa após sofrer uma clivagem proteolítica e se ligar ao receptor do *AMH* tipo 2 (*AMHR2*), induzindo assim sinais intracelulares através de proteínas Smads (PEPINSKY et al., 1988; DI CLEMENTE et al., 2010). A região N-terminal é chamada de pró-região. Esta parte é importante para a síntese e transporte do *AMH* extracelular. O precursor do *AMH* é clivado entre estes dois domínios (pró-região e C-terminal). Em seguida, uma segunda clivagem ocorre na pró-região dando origem a três regiões diferentes: região pró-semi-madura, semi-madura e 29 madura (Figura 5) (JOSSO e DI CLEMENTE, 2003; DI CLEMENTE et al., 2010; MAMSEN et al., 2015).

A região C-terminal se torna biologicamente ativa quando se associa de maneira não-covalente com a pró-região. Uma nova clivagem resulta na dissociação da pró-região com a região C-terminal madura. Desta forma o *AMH* maduro é liberado na matriz extracelular. A porção N-terminal é importante para a manutenção da atividade biológica da porção C-terminal do *AMH* (Figura 7) (WILSON et al., 1993; JOSSO e DI CLEMENTE, 2003; DI CLEMENTE et al., 2010). As sequências da proteína deduzida do *AMH* mostram características bem conservadas entre as espécies de vertebrados, tais como o domínio TGF $\beta$  na região C-terminal

e o domínio *AMH\_N* na região N-terminal. No entanto, vale ressaltar as diferenças no sítio de clivagem entre os vertebrados. Em mamíferos e aves, a região onde ocorre o reconhecimento pelas proteases para a clivagem é simples (R-X-X-R), enquanto que em peixes teleosteos a região é dupla (R-X-X-R-X-X-R). Esta clivagem é necessária para o processamento do *AMH*.

**Figura 7** - Diagrama mostrando o processamento do *AMH*



Fonte: MAMSEN et al., (2015).

Os peixes são um grupo extremamente diverso de organismos, com os mecanismos subjacentes de determinação do sexo não sendo fortemente conservados entre os táxons. Estes podem variar entre espécies intimamente relacionadas e até mesmo mostrar variação intraespecífica. Por exemplo, três genes diferentes responsáveis pela determinação do sexo foram identificados em três espécies diferentes de peixes em um gênero: *Dmy/Dmrt1by* em *Oryzias latipes* (MATSUDA et al., 2002; NANDA et al., 2002), *Sox3y* em *O. dancena* (TAKEHANA et al., 2014) e *Gsdfy* em *O. luzonensis* (MYOSHO et al., 2012). Diferentes componentes do fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) foram identificados como fortes candidatos para genes mestres determinantes do sexo em diferentes espécies de peixes - *AMHY* em *Odontesthes hatcheri* (HATTORI et al., 2012), *AMHr2* em *Takifugu rubripes* (KAMIYA et al., 2012) e *AMHY* na tilápia do Nilo (ESHEL et al., 2014; LI et al., 2015). Um gene sexualmente dimórfico relacionado com a imunidade, presente apenas no cromossoma Y (*sdY*), é o principal gene determinante do sexo na truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (YANO et al., 2012) e descobriu-se que este gene específico do macho é conservado nos salmonídeos (YANO et al., 2013).

Os sistemas heterogaméticos de determinação do sexo masculino (XX/XY) e feminino (WZ/ZZ) e as influências ambientais sobre o sexo são evidentes em diferentes espécies de tilápia. Devido a essa peculiaridade, bem como a demanda por cultura de sexo único (macho monossexuado, para evitar reprodução indesejada e aproveitar o crescimento mais rápido dos machos) têm encorajado os pesquisadores a elucidar os mecanismos por trás desse fenômeno. Diferentes *loci* de determinação do sexo foram mapeados em diferentes cromossomos (grupos de ligação, LGs) em espécies de tilápia. A partir de estudos baseados em marcadores microssatélites, *loci* em LG1 e LG3 foram associados ao sexo fenotípico na tilápia azul, *O. aureus*, que possui principalmente determinação do sexo heterogamético feminino (LEE et al., 2004), enquanto um *locus* de determinação do sexo heterogamético masculino foi encontrado em LG1 na tilápia de Moçambique (*O. mossambicus*) originária da África do Sul (LIU et al., 2013).

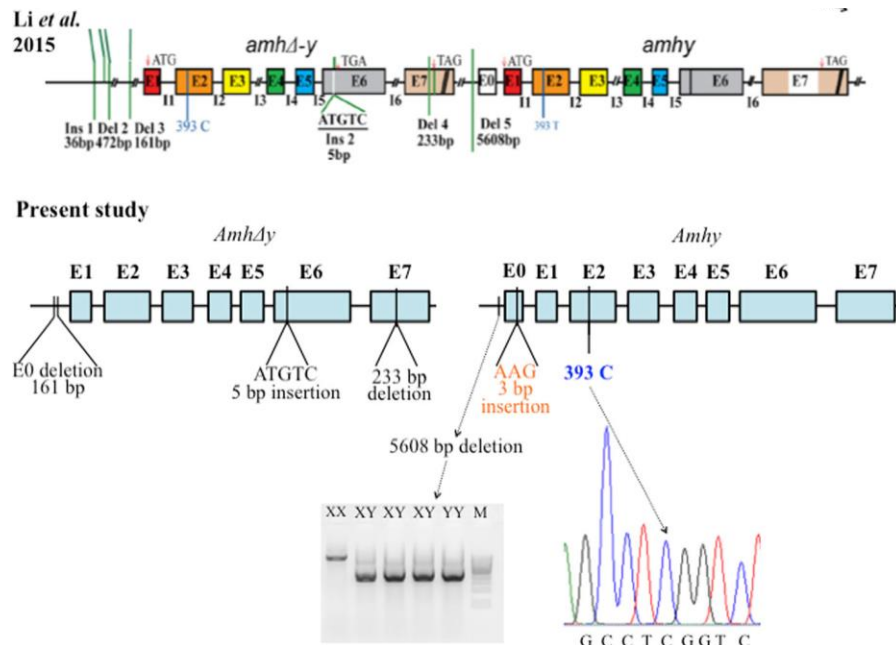
A tilápia do Nilo apresenta heterogametia masculina (XX/XY) que pode, às vezes, interagir com fatores genéticos ou ambientais menores para resultar no sexo fenotípico (PENMAM et al., 2008). Dois *loci* diferentes de determinação do sexo (em LG1 e LG23) foram mapeados em diferentes estoques de tilápia do Nilo. Um *locus* foi mapeado para LG1 na linhagem Stirling de tilápia do Nilo, originalmente derivada do Lago Manzala no Egito, usando análise de marcadores microssatélites mediada por BSA (Análise de Segregantes Agrupados) (LEE et al., 2003) e sequenciamento de DNA associado ao sítio de restrição (RADseq) (PALAIOKOSTAS et al., 2013). A termosensibilidade associada aos *loci* em LG20 (PALAIOKOSTAS et al., 2015) e LG1, LG3 e LG23 (LUHMANN et al., 2013; WESSELS et al., 2014) também foi observada na tilápia do Nilo Stirling.

Em um estoque em Israel, derivado do estoque Swansea de tilápia do Nilo (ele próprio derivado do estoque Stirling), outro *locus* determinante de sexo XX/XY, em LG23, foi encontrado usando repetições de sequência simples (SSR) e análise de marcadores específicos de sexo (ESHEL et al., 2011; ESHEL et al., 2012). Uma variante duplicada em tandem do gene *AMH*, *AMHY* (associada à determinação do sexo masculino), foi identificada como um determinante de sexo candidato neste estoque (ESHEL et al., 2014). A mesma variante *AMH* foi identificada em uma linhagem japonesa de tilápia do Nilo, originária do Egito, bem como uma variante chamada de *AMH<sub>Δ</sub>y* para distinguir da outra cópia duplicada em tandem do gene *AMHY* (LI et al., 2015).

*AMHY* está localizado imediatamente a jusante de *AMH<sub>Δ</sub>Y* no haplótipo Y (Figura 8) em LG23 e a sequência de codificação é idêntica à do *AMH* ligado ao X, exceto por uma deleção do promotor de 5608 pb e uma única substituição de base identificada no exon II (este último

considerado como tendo um papel crítico na determinação do sexo masculino) (TASLIMA et al., 2020).

**Figura 8** - Diagrama detalhado mostrando a região putativa de determinação sexual XX/XY no LG23 do GIFT



Fonte: TASLIMA et al., (2020).

Nos peixes teleósteos, a expressão do *AMH* é maior em machos do que em fêmeas, como por exemplo, em linguado (YOSHINAGA et al., 2004), tilápia do Nilo (IJIRI et al., 2008) e zebrafish (RODRÍGUEZ-MARÍ et al., 2005). Já em hermafroditas, como no pargo preto (*Acanthopagrus schlegeli*), por exemplo, níveis elevados de *AMH* estão associados com o início da diferenciação testicular (WU et al., 2010; WU e CHANG, 2013), e seu padrão de expressão é mantido durante o período de inversão sexual de fêmea para macho. Por outro lado, na inversão de macho para fêmea, seus níveis diminuem drasticamente (WU et al., 2010; WU et al., 2012; WU e CHANG, 2013).

Em *Odontesthes hatcheri*, Hattori e colaboradores (2012) mostraram que machos apresentam uma cópia duplicada do gene *AMH*, o *AMHY*, que está ligado ao cromossomo Y e é requerido para a determinação sexual desta espécie. Neste sentido, o *AMH* e seu receptor devem desempenhar um papel importante na diferenciação sexual masculina, assim como no desenvolvimento testicular dos vertebrados de uma maneira geral, inclusive nos peixes.

## 2.7 Seleção assistida por marcadores como estratégia para a produção de linhagens monossexo

Nos últimos anos, diversas técnicas de manejo têm sido empregadas no sentido de minimizar os problemas devido à reprodução em ambientes de cultivo a fim de viabilizar a tilapicultura. Algumas foram baseadas apenas na redução da atividade reprodutiva (utilização de cultivos em gaiolas); redução do crescimento dos filhotes ou recrutamento (policultivo como peixes predadores ou constante despesca dos viveiros de cultivo). Outras técnicas mais eficazes, baseadas na manipulação direta e indireta do sexo fenotípico dos peixes foram ganhando destaque, baseadas na eliminação das fêmeas dos ambientes de cultivo a partir de inversão sexual por tratamentos hormonais e manipulação genética ou ambiental (DONALDSON, 1996).

No geral, existem basicamente dois métodos de controle endócrino do sexo, que são os diretos e os indiretos. O primeiro método irá atuar diretamente sobre os processos fisiológicos que determinam a masculinização, feminilização ou esterilização. Estes utilizam tratamentos com agentes androgênicos, estrogênicos ou esterilizantes durante os estágios de desenvolvimento dos animais quando ainda estão sexualmente indiferenciados. O segundo método atua diretamente sobre processos genéticos (cromossomos e sistemas cromossômicos, e diferentes linhagens e famílias) ou variáveis ambientais (temperatura da água, densidade de estocagem e compostos hormonais no ambiente), os quais influenciarão indiretamente os processos fisiológicos que determinam o sexo fenotípico (DONALDSON, 1996).

Em tilápia, a formação de populações monossexo por meio da inversão sexual, ou comumente chamada de inversão sexual, atualmente tem sido o método que melhor tem atendido à cadeia produtiva da tilapicultura no mundo, pela sua efetividade e praticidade (LUNDSTEDT et al., 1997). Esta técnica consiste na administração de hormônios esteroides sexuais sintéticos, como a 17- $\alpha$ -metiltestosterona e o 17- $\beta$ -estradiol, por meio da dieta, às larvas antes de sua diferenciação gonadal (HERBST, 2002; DESPREZ et al., 2003; DESPREZ et al., 2006).

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

Apesar de ter sido demonstrado em estudos específicos (ROTHBARD et al., 1990; CURTIS et al., 1991) que a utilização do hormônio não resulta no acúmulo de resíduos nos tecidos dos peixes revertidos com hormônio masculinizante, ainda existem preocupações quanto à sua liberação no ambiente e à postura dos consumidores em relação ao produto (BEARDMORE et al., 2001; KARAYÜCEL et al., 2003). Essa preocupação tem feito com que se busque uma melhor qualidade e eficiência no processo com a diminuição dos custos e riscos e, principalmente, com redução de impactos ambientais (PANDIAN e SHEELA, 1995; BARAS et al., 2001). Dessa forma, uma estratégia viável e de menor custo, é a aplicação dos marcadores moleculares na distinção sexual precoce, para posteriores cruzamentos direcionados.

As tilápias têm se tornado um importante grupo de peixes cultivados, utilizados em pesquisas em diversos países tropicais e subtropicais por sua versatilidade produtiva. Sua transferência, tanto intencional quanto acidental, para regiões fora de sua área de origem tem resultado na formação de híbridos, inclusive com a introgressão de outras espécies, o que dificulta a identificação morfológica e a avaliação dos estoques naturais, bem como a determinação do sexo genético (MELO, 2004). Diante desse cenário, o uso de marcadores moleculares torna-se fundamental, sendo estes definidos como referências derivadas de genes expressos ou de segmentos específicos de DNA que possibilitam a distinção entre grupos ou indivíduos, os quais são transmitidos geneticamente de acordo com as leis básicas de herança descritas por Mendel (MILACH, 1998; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; MATIOLI, 2001). De modo geral, apresentam maior poder de resolução e informação em comparação à abordagem cariotípica, uma vez que permitem o acesso direto às mutações responsáveis pelos polimorfismos que diferenciam indivíduos, populações e táxon.

Além desses aspectos, os marcadores morfológicos apresentam a desvantagem de serem identificados, em sua maioria, apenas em indivíduos adultos ou totalmente desenvolvidos, exigindo alto custo na manutenção do plantel (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996). Em contraste, os marcadores moleculares — especialmente os baseados em DNA — permitem determinar o potencial genético de um organismo com maior precisão, mesmo antes da manifestação de seu fenótipo. Em outras palavras, é possível avaliar o valor genético de um embrião sem a necessidade de analisar seu desempenho ou o de sua progênie (COUTINHO; REGITANO, 2001).

Os avanços nas técnicas de biologia molecular possibilitaram aos geneticistas e melhoristas que trabalham com peixes investigar diretamente as variações no DNA, permitindo a análise completa do genótipo dos indivíduos (MOREIRA, 2001).

A aplicação dos marcadores moleculares tem tido papel importante, pois eles são ferramentas fundamentais no processo de seleção, desenvolvimento e aplicação em programas de melhoramento e poderão determinar o êxito de um projeto neste mercado altamente competitivo (COUTINHO e REGITANO, 2001)

Diante das dificuldades de discriminação do sexo nos peixes tilápia apenas pela morfologia na fase juvenil, o uso dos marcadores moleculares tem se destacado com forte potencial em tilápia com capacidade de discriminação precoce. Vários estudos têm sido realizados no intuito de encontrar aquele com maior eficácia na identificação do sexo (TASLIMA et al. 2020; ESHEL et al., 2014; LI et al., 2015). Desses, os que mais se destacaram com maior possibilidade de aplicação foram aqueles ligados ao gene *AMH* (Hormônio Antimuleriano) devido sua forte ligação na via metabólica relacionada à determinação sexual. Taslima et al. (2020) demonstraram sua aplicabilidade nos peixes da linhagem GIFT, porém, o estudo também revelou alguma variação nos resultados, provavelmente devido à natureza genética da linhagem, além de ter apresentado limitações na sexagem molecular em outras linhagens como a Stirling, sendo, dessa forma, apropriado a execução de prévios testes de validação antes de sua aplicação.

Diante do que foi exposto, o uso de marcadores moleculares pode ser a chave para a formação de linhagens monossexo, o que possibilita a redução de hormônios masculinizantes, sendo utilizados apenas nas fases iniciais para induzir o cruzamento de animais que serão identificados por sexagem molecular para conduzir a formação de machos geneticamente YY que servirão como base para a formação de proles 100% XY. Com isso, é possível um monitoramento adequado por seleção assistida por marcadores para a condução de programas de melhoramento genético com o controle do sexo do plantel.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Montagem do experimento**

O experimento foi realizado na Embrapa Pesca e Aquicultura, (Palmas - TO, latitude 10°08'41"S e longitude 48°18'51"W) com animais adquiridos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) (Florianópolis-SC, latitude 27° 35' 49" e longitude 48° 32' 58"), esses animais foram divididos em 6 grupos genéticos (1A, 1B; 2A, 2B; 3A, 3B; 4A, 4B; 5A, 5B; 6A, 6B), onde foram submetidos a uma alimentação *ad libitum*, cada animal recebeu um identificador único (PIT-tags) onde foi amostrado para: (i) classificação do sexo por morfologia gonadal (método fenotípico) e (ii) classificação do sexo

por marcadores moleculares (método genotípico). Para a análise de desempenho foram utilizados três indicadores zootécnicos: ganho de peso diário, peso corpóreo e taxa de crescimento específica. A sexagem fenotípica foi realizada por inspeção morfológica externa das papilas genitais. A classificação ocorreu através de avaliadores previamente treinados, com base nos critérios morfológicos usuais de diferenciação gonadal. Os peixes foram anestesiados e tratados de acordo com as normas de bem-estar animal (MAPA). Para a sexagem genotípica foram utilizados marcadores do sistema *amh/amhy/amhΔy*, conforme sugerido no trabalho de Taslima et al. (2020), que distinguem cromossomos sexuais por presença/ausência do alelo Y-específico. Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Pesca e Aquicultura (protocolo nº 05/2025).

### 3.2 Material biológico e extração de DNA genômico total

O DNA genômico total foi extraído de uma fração da nadadeira de cerca de 0,25 cm<sup>2</sup> usando o kit Extracta® Kit – DNA e RNA de Patógenos (MPTA-B01K) (Loccus Ltda), conforme recomendações do fabricante. Para maior rendimento do DNA, o tempo de digestão ao qual o tecido foi submetido, em tampão de lise e proteinase K, foi de 1 hora e 30 min a uma temperatura de 72°C. A quantidade e o grau de pureza foram avaliados usando o espectrofotômetro de ácidos nucleicos Nanodrop One<sup>c</sup> (ThermoFisher). Para verificar a integridade do genoma, as amostras foram visualizadas em gel de agarose a 0,8%, corado com SybrSafe na concentração final de 0,2 x, submetido ao campo eletroforético e registrado no fotodocumentador Chemidoc<sup>TM</sup> (BioRAD). O tamanho do genoma foi comparado com o padrão de bandas gerados pelo *ladder* 1 kb (ludwig Ltda) (Figura 9).

**Figura 9** - Protocolo de extração de DNA genômico total

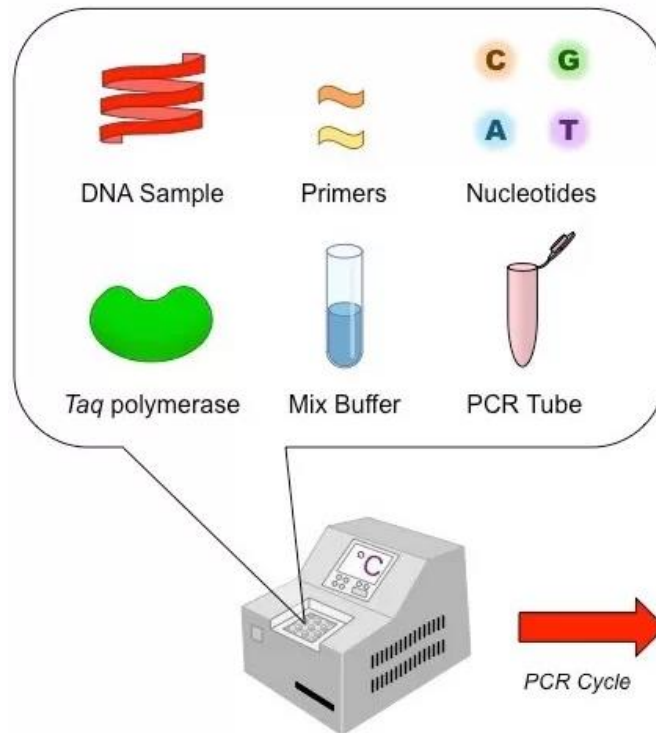


Fonte: Autora (2025).

### 3.3 Sexagem molecular de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Três pares de *primers*, desenvolvidos por Taslima et al. (2020), que amplificam regiões polimórficas do gene do Hormônio Anti-Muleriano, *Amh* (principal responsável pela determinação sexual) e suas variantes *AmhΔ-y* e *Amhy* foram avaliados, a fim de rastrear o sexo genético de todos os espécimes empregados no experimento (Tabela 2). Para a reação de amplificação foi preparado um volume final de 10 µL, contendo os seguintes reagentes: 1.25 X de tampão contendo MgCl<sub>2</sub> (*Dreamtaq, Thermo fisher scientific™*), 0.8 mM de dNTP, 0.5 µM de cada primer e 1U de Taq-polimerase (*Dreamtaq*) e pelo menos 10 ng de DNA (Figura 10).

**Figura 10** - Ilustração do processo de PCR (Reação da Cadeia de Polimerase)



Fonte: Profissão Biotec (2017).

Para a execução da reação, a programação no termociclador (*BioRad*) consistiu de uma desnaturação de 95°C por 1 minuto, seguido por 40 ciclos de 95 °C por 15-30 segundos, 55-62°C por 15 segundos, 72°C por 30 segundos, com uma extensão final de 72°C por 5 minutos (Tabela 2). A genotipagem foi realizada por meio da visualização direta dos fragmentos amplificados, separados por eletroforese em gel de agarose de 1,5%, corado com SybrSafe 0,2 X, com o perfil de bandas comparado com *ladder* 100 bp (Ludwig Ltda), fotografados e registrados no sistema de fotodocumentação (Chemildoc™ - BioRad). Conforme observado no trabalho de Taslima et al. (2020), indivíduos que apresentavam uma única banda no gel para os

três *locus*, foram considerados como fêmea genética, e aqueles com duas eram machos, que é referente à deleção do fragmento presente nas variantes do gene *Amh*, no cromossomo Y do grupo de ligação LG 23.

**Tabela 2** - Relação de primers e programação utilizados para amplificar trechos do exon 0 e exon VII do gene *Amh/AmhΔy*

Primer	Marcador	Sequence do primer (5'-3')	Ta (°C)	Tamanhos observados (pb)	Referência
<i>Amh_E0_F2</i>	<i>AmhΔy</i> .Exon 02	TGC CAT CCT TCA AGT GAG CTG G GGG ACA CGG AGG	62	M – 480/650; F – 650	Taslina et al. (2020)
<i>Amh_E0_R2</i>	<i>AmhΔY</i> .Exon VII	TAA ACA GAA G	55	M – 200/450; F – 450	Taslina et al. (2020)
<i>Amh_ExonV II_R</i>		TGT GTT TTC TTT CTG CGT CCG CCA			Taslina et al. (2020)
<i>Amh_ExonV II_F</i>		AGC AGC TCT AGC GGC ATC CAC A			Taslina et al. (2020)

Fonte: Autora (2025).

### 3.4 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas usando a plataforma R, utilizando-se os pacotes stats para a estatística descritiva, análise de variância e teste de normalidade de Shapiro-Wilks.

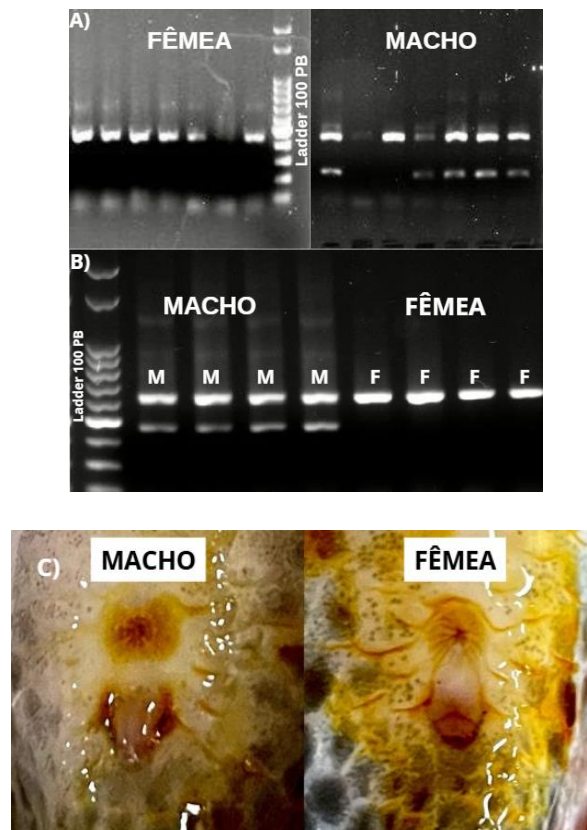
Para a análise do desempenho discriminatório dos marcadores, utilizou-se como base de dados uma matriz de dados (V/E) conforme a genotipagem molecular, onde “V” indica concordância com o sexo fenotípico esperado e “E” indica discordância. Para isso o pacote *caret* foi empregado. Para isso empregou-se o: teste de sensibilidade (*recall* ou verdadeira taxa positiva), no qual sensibilidade é igual a  $tp / (tp + fn)$ , ou seja, proporção de indivíduos realmente do sexo feminino que foram corretamente identificados como tal,  $tp$  – indivíduos corretamente classificados como fêmeas e  $fn$  – indivíduos incorretamente classificados como machos, mas que são fêmeas; teste de especificidade (verdadeira taxa negativa), onde especificidade é igual a  $tn / (tn + fp)$ , ou proporção de indivíduos realmente do sexo masculino que foram corretamente identificados como tal,  $tn$  – indivíduos corretamente classificados como macho,  $fp$  – incorretamente classificados como fêmea, mas que são machos; Valor Preditivo Negativo – VPN, sendo  $vpn = tn / (tn + fn)$ , onde  $vpn$  seria a probabilidade de um indivíduo ser realmente do sexo feminino, dado que o teste foi negativo para macho; e acurácia, ou proporção de previsões corretas em todas as classificações feitas que seria,  $(tp + tn) / total$ . Para ter uma visão geral da eficiência do marcador estimou-se também a curva de ROC usando o mesmo pacote estatístico.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os marcadores moleculares baseados no gene *AMH* (*Anti-Mülleriano Hormone*), especificamente aqueles localizados nos exons VII e 0, originalmente desenvolvidos para a

linhagem GIFT (TALISMA et al., 2020), apresentaram desempenho consistente na identificação do sexo genético. Entre os marcadores avaliados, *AmhΔy* (exon VII) e *Amh* (exon 02) produziram bandas nítidas e reprodutíveis em gel de agarose, permitindo distinguir com precisão os genótipos sexuais. O padrão observado foi conforme o esperado: machos (XY) exibiram amplificação do fragmento associado ao *AmhΔy*, enquanto fêmeas (XX) não apresentaram esse produto (Figura 11). Esses achados foram amplamente concordantes com a sexagem genotípica, reforçando a eficiência e robustez do sistema *amh/amhy* para determinação sexual em linhagens derivadas de GIFT. O perfil de bandeamento dos marcadores evidenciou ampliações específicas entre os sexos, em concordância com Talisma et al., (2020), indicando deleções no cromossomo Y dos machos para a variante *AmhΔy*: 233 bp no exon VII e 161 bp no exon 0, características que sustentam o padrão diferenciado de amplificação observado.

**Figura 11** - Gel de agarose com o produto de amplificação dos marcadores e sexo morfológico. A) *AmhΔy* (exon VII), B) *Amh* (exon 02) e C) Identificação do sexo morfológico



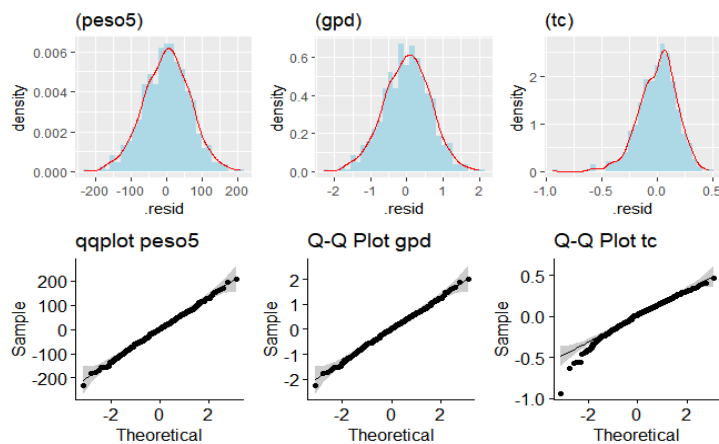
Fonte: Autora (2025).

Considerando como critério de classificação sexual a genotipagem molecular ou sexagem genotípica, os machos apresentaram maiores médias de ganho de peso diário e peso

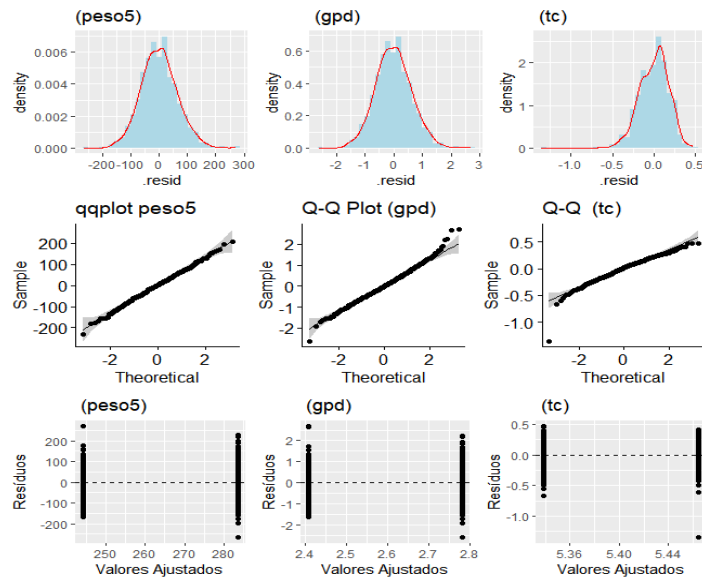
final, além de exibirem taxa de crescimento específico ligeiramente superior (Figura 12). Os valores de  $p$  indicaram diferenças estatisticamente significativas na maior parte das comparações ( $p < 0,001$ ). Os diagnósticos de resíduos (densidade, Q-Q plot e resíduos vs ajustados) demonstraram adequação aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, justificando o emprego de testes paramétricos. Contudo, os dados provenientes da sexagem morfológica apresentaram desvios de normalidade (Figura 12).

**Figura 12** - Representação da distribuição dos resíduos referente ao ganho e peso diário, ganho de peso final e taxa de crescimento considerando a sexagem genótipica (A) e fenotípica (B)

A)



B)



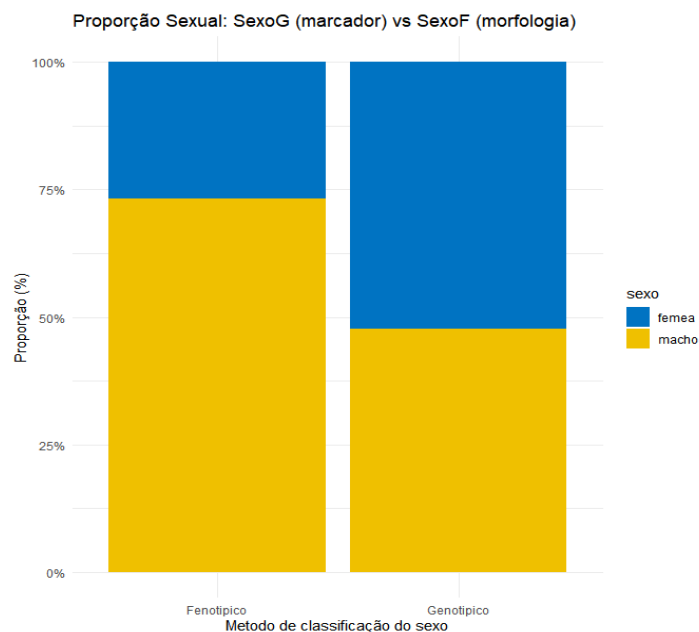
Fonte: Autora (2025).

Quanto à razão sexual, a sexagem fenotípica apresentou forte viés para machos, com 49 fêmeas (26,8%) e 408 machos (73,2%). Em contraste, o método baseado em marcador molecular revelou uma proporção equilibrada, próxima de 1:1, com 291 fêmeas (52,2%) e 266

machos (47,8%) (Figura 13). Dessa forma, alguns estudos constataram que a exposição a temperaturas elevadas (36 °C) pode promover masculinização significativa em determinadas progênes quando iniciada por volta de 10 dias após a fertilização e mantida por, no mínimo, 10 dias (BAROILLER et al., 2001; TESSEMA et al., 2006). Wessels e Hörstgen-Schwark (2007) demonstraram que a sensibilidade da proporção sexual à temperatura possui base hereditária, variando conforme o fundo genético das famílias. Em complemento, Lühmann et al. (2012) identificaram QTLs específicos associados à masculinização térmica nos grupos de ligação LG1, LG3 e LG23, reforçando o caráter genômico desse fenômeno. Além disso, há evidências de que altas temperaturas também podem induzir feminização, mesmo em cruzamentos cuja progênie seria teoricamente composta apenas por machos (ABUCAY et al., 1999; WESSELS et al., 2011).

Desse modo, a discrepância marcante entre os métodos, sobretudo o viés masculino observado na sexagem fenotípica, indica que a identificação visual é insuficiente e imprecisa em determinadas fases do ciclo produtivo. A elevada proporção de machos morfológicos, contrastando com a razão equilibrada revelada pelo marcador molecular, sugere que a morfologia subestima a presença de fêmeas, especialmente quando os indivíduos se encontram em estágios imaturos ou apresentam características externas ambíguas. Tal padrão é coerente com descrições prévias de que o dimorfismo sexual em tilápias pode ser sutil e dependente de condições fisiológicas, ambientais e etárias.

**Figura 13** - Gráfico da Proporção Sexual: Sexo G (Marcador) vs Sexo F (Morfologia)



Fonte: Autora (2025).

A matriz de confusão revelou acurácia de 0,695, coeficiente kappa de 0,402, sensibilidade para fêmeas de 0,906, especificidade para machos de 0,618, valor preditivo positivo (VPP) de 0,464, valor preditivo negativo (VPN) de 0,947 e acurácia balanceada de 0,762. A curva ROC manteve-se acima da linha de referência, indicando boa capacidade discriminativa (AUC= 0,76) do marcador molecular, resultado também sustentado pelas métricas de concordância.

A acurácia moderada (0,695) e o coeficiente kappa de 0,402 apontam concordância intermediária entre a sexagem morfológica e a genotípica, sugerindo a presença de erros sistemáticos no diagnóstico visual. Por outro lado, a alta sensibilidade (0,906) e o elevado VPN (0,947) demonstram excelente desempenho do marcador molecular na identificação de fêmeas genéticas, praticamente eliminando falsos negativos. A menor especificidade (~0,62) evidencia que parte dos indivíduos classificados morfológicamente como machos corresponde, na realidade, a fêmeas genéticas, reforçando a limitação do método fenotípico.

Embora a acurácia em relação ao “padrão” morfológico seja moderada (0,695; kappa = 0,40), a elevada sensibilidade para fêmeas (0,906) e o alto VPN (0,947) demonstram que não há possíveis falhas do marcador na identificação de fêmeas genéticas. A especificidade reduzida (~0,62) sugere que parte dos indivíduos classificados morfológicamente como machos corresponde, na verdade, a fêmeas. Um resultado esperado quando a avaliação visual subestima fêmeas imaturas ou com características pouco definidas. A curva ROC posicionada acima da diagonal reforça a capacidade discriminativa do marcador, evidenciando sua eficácia mesmo quando comparado a um método de referência que apresenta limitações intrínsecas.

**Tabela 3** - Indicadores de desempenho do modelo de classificação

<b>Indicador</b>	<b>Estimativa</b>
Acurácia (Accuracy)	0,6947935
Coeficiente Kappa	0,4020662
Sensibilidade (Sensitivity)	0,9060403
Especificidade (Specificity)	0,6176471
Valor Preditivo Negativo (NPV)	0,9473684
Precisão (Precision / PPV)	0,4639175
Revocação (Recall)	0,9060403

Fonte: Autora (2025).

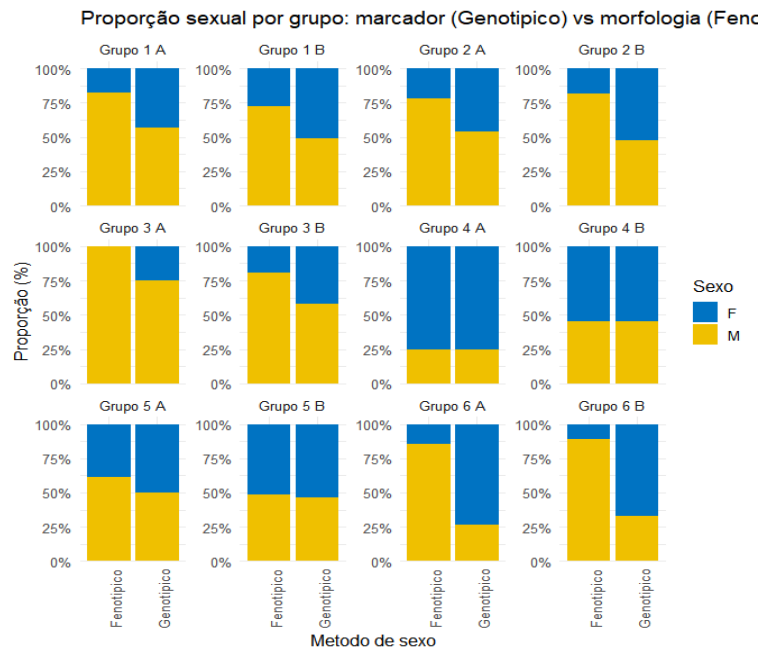
Taslina et al., (2020) no trabalho ligado a determinação do sexo da linhagem GIFT de tilápia, mostraram que a performance dos marcadores moleculares utilizados para sexagem foi

avaliada por meio de parâmetros estatísticos que derivam diretamente da matriz de confusão. Embora a matriz completa (TP, TN, FP e FN) não tenha sido mostrada graficamente, os autores empregaram métricas clássicas de classificação, como: acurácia global, taxa de falsos positivos, taxa de falsos negativos e concordância entre o genótipo predito e o fenótipo observado. Essas métricas foram essenciais para quantificar a capacidade discriminatória dos marcadores identificados, permitindo verificar se cada SNP conseguia, de forma consistente, distinguir machos genéticos de fêmeas genéticas nas diferentes famílias analisadas, demonstrando que a avaliação de marcadores usando a matrix de confusão com input pode ser uma ótima alternativa para verificar o poder discriminatório dos marcadores.

A avaliação por grupo genético mostrou que diversos grupos apresentaram viés masculino na sexagem fenotípica, enquanto a genotípica manteve proporções próximas de 45–55% para a maioria deles. Essa consistência entre grupos reforça a robustez do marcador *AMH/AMHY* frente às variações entre linhagens, principalmente no que se refere aqueles nos exons VII e Exon 0 (Figura 14). Essa estabilidade das proporções sexuais obtidas pela sexagem genotípica, concentradas majoritariamente entre 45–55% nos diferentes grupos genéticos, demonstra a eficiência do marcador diante da variabilidade entre linhagens. Desse modo, o viés masculino recorrente observado na avaliação fenotípica confirma que o método morfológico está sujeito a distorções sistemáticas, e não apenas a erros esporádicos.

Nesse sentido, o gene *AMH/AMHY* é considerado um dos mais promissores candidatos para aplicações de sexagem molecular em tilápias devido a um conjunto de evidências genéticas, funcionais e evolutivas que sustentam seu papel direto na determinação do sexo masculino, além disso, é o gene responsável por iniciar uma cadeia de eventos metabólicos que culminam no processo de determinação sexual nos peixes. Esse marcador, o *AMHY*, está localizado exatamente na principal região determinante do sexo no LG23, o que reforça a associação genética entre este gene e o fenótipo masculino.

Diversos trabalhos como aqueles conduzidos por Li et al. (2015), Conte et al. (2021) e Taslima et al. (2020), demonstraram que o *AMHY* apresenta altíssima concordância entre genótipo e sexo fenotípico, com taxas reduzidas de falsos positivos e falsos negativos, superando os marcadores SNP anteriormente utilizados. Assim, foi relatado que os membros da via de sinalização do fator de crescimento transformador beta ( $TGF-\beta$ ) (*Gsdfy*, *Amhy* e *Amhr2*) podem fazer parte de uma via comum para a determinação do sexo em muitos peixes (MYOSHO et al., 2012; HATTORI et al., 2012; KAMIYA T. et al., 2012). Variações do gene *Amh* (seja *Amh $\Delta$ y* ou *Amhy*), um membro da superfamília  $TGF-\beta$ , parecem ser o gene candidato para a determinação do sexo masculino em GIFT (TASLIMA et al., 2020).

**Figura 14** - Gráfico da Proporção Sexual por Grupo: Marcador (Genotípico) vs Morfologia (Fenotípico)

Fonte: Autora (2025).

Dessa forma, os resultados reforçam que o marcador *amh/amhy* constitui uma ferramenta confiável para a determinação sexual em *O. niloticus*, especialmente em fases precoces, nas quais a morfologia apresenta baixa precisão. A adoção do método molecular tende a reduzir falhas de manejo, aprimorar programas de melhoramento e aumentar a acurácia na formação de lotes monossexo, contribuindo para maior eficiência produtiva na cadeia aquícola.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os marcadores moleculares *amh/amhΔy* demonstraram elevada precisão e coerência biológica na identificação do sexo genético, evidenciada pela razão sexual próxima de 1:1. Em contraste, a sexagem morfológica subestimou a proporção de fêmeas, especialmente em indivíduos imaturos, o que explica a acurácia moderada quando ambos os métodos são comparados. Assim, a “discordância” observada não reflete limitações do marcador molecular, mas sim as restrições da morfologia externa como padrão-ouro inadequado nesses estágios. Portanto, a acurácia deve ser interpretada à luz do método de comparação utilizado, e não como indicativo de insuficiência do marcador.

## REFERÊNCIAS

- ABUCAY, J. S.; MAIR, G. C.; SKIBINSKI, D. O. F.; BEARDMORE, J. A. **Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L.** *Aquaculture*, v. 173, p. 219–234, 1999. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00489-X.
- ARAI, K. **Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan.** *Aquaculture*, v. 197, p. 205–228, 2001.
- BARAS, E.; JACOBS, B.; MÉLARD, C. **Effects of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX - XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*.** *Aquaculture*, Amsterdam, v. 1/2, n. 142, p. 187–199, 2001.
- BAROILLER, J.-F.; D’COTTA, H. **Environment and sex determination in farmed fish.** *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 130, p. 399-409, 2001. DOI: 10.1016/S1532-0456(01)00267-8.
- BEARDMORE, J. A.; MAIR, G. C.; LEWIS, R. I. **Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects.** *Aquaculture*, Amsterdam, v. 197, n. 1, p. 283–301, 2001.
- BOMBARDELLI, R. A.; SANCHES, E. A.; PINTO, D. F. H.; MARCOS, R. M.; BARBERO, L. **Idade de maior sensibilidade de tilápia-do-nilo aos tratamentos de masculinização por banhos de imersão.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p. 1–6, 2007.
- BORGES, Adalmyr Moraes; BERTHIER, Florence Marie. *Criação de tilápias*. 3. ed. Brasília, DF: Emater-DF, 2019.
- BORGES, A. M. **Efeito da temperatura da água na produção de populações monossexo de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem chitralada.** 2004. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade de Brasília e Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, 2004.
- BORGES, A.M., MORETTI, J.O.C., McMANUS, C., MARIANTE, A.S. **Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chitralada** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, fevereiro, 2005, v.40, n.2, p.153-159.
- BOSCOLO, R. W. et al. **Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento.** *R. Bras. Zootec.*, 30(5), out. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000600001>. Acesso em: 12 out. 2025.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVID, R. W. **Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.** *American Journal of Human Genetics*, v. 32, p. 314–331, 1980.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 56, de 6 de novembro de 2008.** Estabelece os procedimentos gerais de recomendações de boas práticas de bem-estar para animais de produção e de interesse econômico. Diário Oficial da

União, Brasília, DF, 7 nov. 2008. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 18 dez. 2025.

CÁCERES, G.; LÓPEZ, M. E.; CÁDIZ, M. I.; YOSHIDA, G. M.; JEDLICKI, A.; PALMA-VÉJARES, R.; TRAVISANY, D.; DÍAZ-DOMÍNGUEZ, D.; MAASS, A. **Fine mapping using whole-genome sequencing confirms Anti-Müllerian Hormone as a major gene for sex determination in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).** *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 9, p. 3213–3223, 2018. DOI: 10.1534/g3.119.400297.

COUTINHO, L.L.; REGITANO, L.C.A. **Uso de Marcadores Moleculares na Indústria Animal.** In: REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. *Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal*. Brasília: EMBRAPA, 2001. cap. 1, p. 11-24.

CURTIS, L. R.; DIREN, F. T.; HURLEY, M. D.; SEIM, W. K.; TUBB, R. A. **Disposition and elimination of 17--methyltestosterone in Nile tilapia.** *Aquaculture*, Amsterdam, v. 99, n. 1, p. 193–201, 1991.

D'ABRAMO, L. **Realizing the Potential of Aquaculture: Undertaking the Wicked Problems of Climate Change, Fed Production Systems and Global Food Security.** *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 33(1), 1–7, 2025. <https://doi.org/10.1080/23308249.2024.2389537>

DESPREZ, D.; CÉDRIC, B.; HOAREAU, M. C.; MÉLARD, C.; BOSC, P.; BAROILLER, J. F. **Study of sex ratio in progeny of a complex *Oreochromis* hybrid, the Florida red tilapia.** *Aquaculture*, v. 251, p. 231–237, 2006.

DESPREZ, D.; GÉRAZ, E.; HOAREAU, M. C.; MÉLARD, C.; BOSC, P.; BAROILLER, J. F. **Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11h-hydroxyandrostenedione (11hOHA4), in Florida red tilapia.** *Aquaculture*, v. 216, p. 55–65, 2003.

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

DI CLEMENTE, N.; JAMIN, S. P.; LUGOVSKOY, A.; CARMILLO, P.; EHRENFELS, C.; PICARD, J. Y.; WHITTY, A.; JOSSO, N.; PEPINSKY, R. B.; CATE, R. L. **O processamento do hormônio antimülleriano regula a ativação do receptor por um mecanismo distinto do TGF-beta.** *Molecular Endocrinology*, v. 24, n. 11, p. 2193-2206, 2010. DOI: 10.1210/me.2010-0273.

DONALDSON, E. M.; HUNTER, G. A. **Sex control in fish with particular reference to salmonids.** *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, v. 39, p. 99–110, 1982.

DONALDSON, E. M. **Manipulation of reproduction in farmed fish.** *Animal Reproduction Science*, v. 42, p. 381–392, 1996.

ESHEL, O.; SHIRAK, A.; DOR, L.; BAND, M.; ZAK, T.; MARKOVICH-GORDON, M. et al. **Identificação de duplicação de *AMH* específica para machos, genes sexualmente**

diferenciados e microRNAs no desenvolvimento embrionário inicial da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *BMC Genomics*, v. 15, 774, 2014.

ESHEL, O.; SHIRAK, A.; WELLER, J. I.; SLOSSMAN, T.; HULATA, G.; CNAANI, A. et al. **Mapeamento preciso de um locus no grupo de ligação 23 para determinação do sexo em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. *Anim. Genet.*, v. 42, p. 222–224, 2011.

ESHEL, O.; SHIRAK, A.; WELLER, J. I.; HULATA, G.; RON, M. **Ligação e mapeamento físico da região sexual em LG23 de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. *G3 Genes Genom Genet.*, v. 2, p. 35–42, 2012.

FAO. (2024). **He State of World Fisheries and Aquaculture 2024 – Blue Transformation in action (Food and Agriculture Organization of the United Nations)**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>

FERGUSON, A.; TAGGART, J. B.; PRODHOL, A. et al. **The application of molecular markers to the study and conservation of fish population with special reference to *Salmo***. *Journal of Fish Biology*, v. 47 (suppl. A), p. 103–126, 1995.

FERNANDES, F. A. et al. **Relatório de avaliação dos impactos das tecnologias geradas pela Embrapa**. Embrapa Pantanal, 2019.

FERREIRA, M.E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA CENARGEN, 1996.

GITHUKIA, C. M.; OGELLO, E. O.; KEMBENYA, E. M.; ACHIENG', A. O.; OBIERO, K. O.; MUNGUTI, J. M. **Growth performance of monosex and mixed sex tilapia**. *Croatian Journal of Fisheries*, p. 42-53, 2015. Online first.

GUPTA, Modadugu Vijay; ACOSTA, Belen. **A review of global tilapia farming practices**. *Aquaculture Asia*, v. 9, 2004. DOI: 10.3109/9780203308905-5.

HATTORI, R. S.; MURAI, Y.; OURA, M.; MASUDA, S.; MAJHI, S. K.; SAKAMOTO, T. et al. **Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination**. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 109, p. 2955–2959, 2012.

HENRIQUE JÚNIOR, Raimundo Audei. **Potencial biotecnológico do fruto de *Batis maritima* L. como estratégia de suplementação alimentar para *Oreochromis niloticus***. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), 2024.

IJIRI, S.; KANEKO, H.; KOBAYASHI, T.; WANG, D. S.; SAKAI, F.; PAULPRASANTH, B.; NAKAMURA, M.; NAGAHAMA, Y. **Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus***. *Biology of Reproduction*, v. 78, p. 333–341, 2008.

JAMIN, S. P.; VIZZIANO, D.; RANDUINEAU, G.; BOBE, J.; LAREYRE, J. J.; GUIGUEN, Y. **Rainbow trout anti-Müllerian hormone gene (*AMH*), structure and expression**. *Cybium*, v. 32, suppl. 9, 2008.

KAMIYA, T.; KAI, W.; TASUMI, S.; OKA, A.; MATSUNAGA, T.; MIZUNO, N. et al. **A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger pufferfish *Takifugu rubripes* (fugu)**. *PLoS Genetics*. *PLoS Genet.*, v. 8, e1002798, 2012.

KARAYÜCEL, I.; PENMAN, D.; KARAYÜCEL, S.; MCANDREW, B. **Thermal and hormonal feminization of all male YY Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L.** *Isr. J. Aquacult.*, Bamidgeh, v. 55, n. 1, p. 114–122, 2003.

KUBITZA, Fernando. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. [S.l.]: [s.n.], 2000.

KLÜVER, N.; PFENNIG, F.; PALA, I.; STORCH, K.; SCHLIEDER, M.; FROSCHAUER, A.; GUTZEIT, H. O.; SCHARTL, M. **Differential expression of anti-Müllerian hormone (AMH) and anti-Müllerian hormone receptor type II (AMHrII) in the teleost medaka.** *Developmental Dynamics*, v. 236, p. 271–281, 2007.

LEE, B. Y.; HULATA, G.; KOCHER, T. D. **Dois loci não ligados controlam o sexo da tilápia azul (*Oreochromis aureus*).** *Hereditariiedade*, v. 92, p. 543–549, 2004.

LEE, B. Y.; PENMAN, D. J.; KOCHER, T. D. **Identificação de uma região determinante do sexo na tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) usando análise de segregantes em massa.** *Anim. Genet.*, v. 34, p. 379–383, 2003.

LIU, F.; SUN, F.; LI, J.; XIA, J. H.; LIN, G.; TU, R. J. et al. **Um mapa de ligação baseado em microssatélites de tilápias tolerantes ao sal (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis spp.*) e mapeamento de loci determinantes do sexo.** *BMC Genomics*, v. 14, 58, 2013.

LOURES, B. T. R. R.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; MOREIRA, H. L. M.; SUSSEL, F. R.; POVH, J. A.; CAVICHIOLO, F. **Manejo alimentar de alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), associado às variáveis físicas, químicas e biológicas do ambiente.** *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 23, p. 877–883, 2001.

LÜHMANN, L. M.; KNORR, C.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G.; WESSELS, S. **First evidence for family-specific QTL for temperature-dependent sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).** *Sex Development*, v. 6, p. 247–256, 2012. DOI: 10.1159/000339705.

MAGALHÃES, Anderson. **Desempenho de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes densidades populacionais.** *Pubvet*, [S. l.], v. 16, n. 05, 2022. DOI: 10.31533/pubvet.v16n05a1112.1-7. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/29>. Acesso em: 12 out. 2025.

MAMSEN, L. S.; PETERSEN, T. S.; JEPPESEN, J. V.; MØLLGARD, K.; GRØNDAHL, M. L.; LARSEN, A.; ERNST, E.; OXVIG, C.; KUMAR, A.; KALRA, B.; ANDERSEN, C. Y. **Proteolytic processing of anti-Mullerian hormone differs between human fetal testes and adult ovaries.** *Molecular Human Reproduction*, v. 21, p. 571–582, 2015. DOI: 10.1093/molehr/gav024.

MATSUDA, M.; NAGAHAMA, Y.; SHINOMIYA, A.; SATO, T.; MATSUDA, C.; KOBAYASHI, T. et al. **Dmy é um gene do domínio DM específico do Y, necessário para o desenvolvimento masculino no peixe medaka.** *Nature*, v. 417, p. 559–563, 2002.

- MATIOLI, S. R. **Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismo de ácidos nucléicos.** In: MATIOLI, S. R. (ed.). *Biologia molecular e evolução*. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 202.
- MELO, Daniela Chemin de. **Caracterização genética de seis plantéis de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites.** Belo Horizonte, 2004. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br>.
- MILACH, S. C. K. **Marcadores de DNA.** *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 5, p. 14–17, 1998.
- MONIS, P.T.; ANDREWS, R.H. **Molecular epidemiology: assumptions and limitations of commonly applied methods.** *Int. J. Parasitol.*, Adelaide, v. 28, n. 6, p. 981–987, 1998.
- MONIS, P.T. **The importance of systematics in parasitological research.** *Int. J. Parasitol.*, Adelaide, v. 29, n. 3, p. 381–388, 1999.
- MOREIRA, H.L.M. **Genética e melhoramento de peixes.** In: MOREIRA, H.L.M. et al. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: ULBRA, 2001. p. 135–147.
- MYOSHO, T.; OTAKE, H.; MASUYAMA, H.; MATSUDA, M.; KUROKI, Y.; FUJIYAMA, A. et al. **Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka (*Oryzias latipes*).** *Genetics*, v. 191, p. 163–170, 2012.
- NANDA, I.; KONDO, M.; HORNUNG, U.; ASAKAWA, S.; WINKLER, C.; SHIMIZU, A. et al. **Uma cópia duplicada de *Dmrt1* na região determinante do sexo do cromossomo Y do medaka, *Oryzias latipes*.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 99, p. 11778–11783, 2002.
- OLIVEIRA, E. G.; SANTOS, F. J. S.; PEREIRA, A. M. L.; LIMA, C. B. **Produção de tilápia: mercado, espécie, biologia e recria.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Teresina, 2007.
- PANDAÍAN, T. J.; SHEELA, S. G. **Hormonal induction of sex reversal in fish.** *Aquaculture*, Amsterdam, v. 138, n. 1, p. 1–22, 1995.
- PALAIOKOSTAS, C.; BEKAERT, M.; KHAN, M. G. Q.; TAGGART, J. B.; GHARBI, K.; MCANDREW, B. J. et al. **Mapping and validation of the major sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using RAD sequencing.** *PLoS One*, v. 8, e68389, 2013.
- PALAIOKOSTAS, C.; BEKAERT, M.; KHAN, M. G. Q.; TAGGART, J. B.; GHARBI, K.; MCANDREW, B. J. et al. **A novel sex-determining QTL in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).** *BMC Genomics*, v. 16, 171, 2015.
- PEIFER, F.; LIM, L. C. **Application of sex reversal technology in ornamental fish culture.** *Aquarium Sciences and Conservation*, v. 1, p. 113–118, 1997.
- PEIXE, BR. Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário Peixe BR da Piscicultura, 2020.** Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2025/>.

PEIXE, BR. Associação Brasileira da Piscicultura. *Anuário Peixe BR da Piscicultura, 2024*. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2025/>.

PEIXE BR – Associação Brasileira da Piscicultura. *Anuário Peixe BR da Piscicultura 2024*. São Paulo: Peixe BR, 2025. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2025/>.

PENMAN, D. J.; PIFERRER, F. **Gonadogênese em peixes**. Parte I: mecanismos genéticos e ambientais de determinação sexual. *Rev Fish Sci.*, v. 16, p. 16–34, 2008.

POPMA, T. J.; GREEN, B. W. *Sex reversal of tilapia in earthen ponds: aquaculture production manual*. Alabama: Auburn University, 1990. 15 p. (Research and Development Series, n. 35).

REIS, V. R.; ALMEIDA, F. L.; PIFERRER, F. **Produção de populações monosex em peixes**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v. 40, n. 1, p. 22–28, jan./mar. 2016. Disponível em: <http://www.cbpa.org.br>.

ROCHA, I. P.; KUBITZA, F.; COSTA, S. W. **Aquaculture in Brazil: Domestic markets rise as industry looks to future**. *Global Aquaculture Advocate*, Saint Louis, v. 14, n. 3, p. 48–51, 2011.

RODRIGUES, L. L. F. **Avaliação do rigor mortis e perfil de ácidos graxos de tilápias (*Oreochromis* sp), geradas a partir de um cruzamento dialélico entre as variedades Gift e Vermelha da Flórida**. 2024. 39 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2024. Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/257363>. Acesso em: 11 out. 2025.

RODRIGUES, R. B.; MEURER, F.; DA SILVA, D. M.; UCZAY, M.; BOSCOLO, W. R. **Tecnologia de bioflocos no cultivo de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. *Acta Tecnológica*, v. 10, n. 2, p. 75–89, 2017. DOI: 10.35818/acta.v10i2.351.

RODRÍGUEZ-MARÍ, A.; YAN, Y.-L.; BREMILLER, R. A.; WILSON, C.; CAÑESTRO, C.; POSTLETHWAIT, J. H. **Characterization and expression pattern of zebrafish anti-Müllerian hormone (AMH) relative to *sox9a*, *sox9b*, and *cyp19a1a*, during gonad development**. *Gene Expression Patterns*, v. 5, p. 655–667, 2005.

SANTOS, Anderson Aparecido Dias. **Inversão sexual de tilápias GIFT criadas em hapas e submetidas a diferentes taxas de alimentação em alta frequência**. Botocatu, 2015.

SANTOS, Elisângela. **Tocantins é capaz de criar tilápias até dois meses mais rápido que os principais estados produtores**. *Embrapa Pesca e Aquicultura*, 6 dez. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/76849073/tocantins-e-capaz-de-criar-tilapias-ate-dois-meses-mais-rapido-que-os-principais-estados-produtores>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SANTOS, Vander Bruno dos. **A disponibilidade de diferentes linhagens de tilápias**. *Pesquisa & Tecnologia*, v. 3, n. 1, Jan–Jun 2006. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/artigos>.

SILVA, Giselle Ferreira; MACIEL, Lidiane Marcondes; DALMASS, Marcos Vinicios; GONÇALVES, Mariana Tiepo. **Tilápia-do-Nilo: criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná**. Curitiba: GIA, 2015. ISBN: 978-85-60-930-07-4.

TASLIMA, K.; WEHNER, S.; TAGGART, J. B. et al. **Sex determination in the GIFT strain of tilapia is controlled by a locus in linkage group 23**. *BMC Genet*, v. 21, 49, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00853-3>.

TESSEMA, M.; MÜLLER-BELECKE, A.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G. **Effect of rearing temperatures on the sex ratios of *Oreochromis niloticus* populations**. *Aquaculture*, v. 258, p. 270–277, 2006. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.041.

TORRES, Isabela Fernanda Araújo. **Influência da personalidade sobre o desempenho zootécnico e reprodutivo de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus***. Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

WESSELS, S.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G. **Selection experiments to increase the proportion of males in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment**. *Aquaculture*, v. 272, p. S80–S87, 2007. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.08.009.

WESSELS, S.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G. **Temperature dependent sex ratios in selected lines and crosses with a YY-male in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. *Aquaculture*, v. 318, p. 79–84, 2011. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.04.039.

WESSLES, S.; SHARIFI, R. A.; LUEHMANN, L. M.; RUEANGSRI, S.; KRAUSE, I.; PACH, S. et al. **Allelic variant in the anti-Müllerian hormone gene leads to autosomal and temperature-dependent sex reversal in a selected Nile tilapia line**. *PLoS One*, v. 9, e104795, 2014.

WILSON, C. A.; DI CLEMENTE, N.; EHRENFELS, C.; PEPINSKY, R. B.; JOSSO, N.; VIGIER, B.; CATE, R. L. **Mullerian inhibiting substance requires its N-terminal domain for maintenance of biological activity, a novel finding within the transforming growth factor-beta superfamily**. *Molecular Endocrinology*, v. 7, p. 247–257, 1993.

YANO, A.; GUYOMARD, R.; NICOL, B.; JOUANNO, E.; QUILLET, E.; KLOPP, C. et al. **Um gene relacionado ao sistema imunológico evoluiu para o gene principal determinante do sexo na truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss***. *Curr Biol.*, v. 22, p. 1423–1428, 2012.

YANO, A.; NICOL, B.; JOUANNO, E.; QUILLET, E.; FOSTIER, A.; GUYOMARD, R. et al. **O gene sexualmente dimórfico do cromossomo Y (sdY) é uma sequência conservada do cromossomo Y específica para machos em muitos salmonídeos**. *Evol Appl.*, v. 6, p. 486–496, 2013.

YOSHINAGA, N.; SHIRAIISHI, E.; YAMAMOTO, T.; IGUCHI, T.; ABE, S.; KITANO, T. **Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Müllerian inhibiting substance during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus***. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 322, p. 508–513, 2004.

ZANONI, M. A.; LEAL, T. V.; CAETANO FILHO, M.; DE OLIVEIRA, C. A. L.; RIBEIRO, R. P. **Inversão sexual de alevinos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) variedade Supreme, submetidos a diferentes temperaturas durante fase de diferenciação sexual.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, p. 455–466, 2013.

ZIMMERMANN, S. O. **Bom desempenho das chitraladas no Brasil.** *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 60, p. 15–19, jul./ago. 2000.