



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
(CAUNESP)



**“Processo de diferenciação gonadal em
Pseudoplatystoma fasciatum e tentativa de
feminilização com 17 β -estradiol”**

Fernanda Nogueira Valentin

Biomédica

Jaboticabal

São Paulo - Brasil

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
(CAUNESP)



**“Processo de diferenciação gonadal em
Pseudoplatystoma fasciatum e tentativa de
feminilização com 17 β -estradiol”**

Doutoranda: Fernanda Nogueira Valentin

Orientadora: Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi

Coorientador: Sergio Ricardo Batlouni

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

Jaboticabal

São Paulo - Brasil

2013

Saber Viver

*Não sei... Se a vida é curta ou longa demais pra nós,
mas sei que nada do que vivemos tem sentido,
se não tocamos o coração da pessoas.*

*Muitas vezes basta ser:
Colo que acolhe,
Braço que envolve,
Palavra que conforta,
Silêncio que respeita,
Alegria que contagia,
Lágrima que corre,
Olhar que acaricia,
Desejo que sacia,
Amor que promove.*

*E isso não é coisa de outro mundo.
É o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela
Não seja nem curta,
Nem longa demais.
Mas que seja intensa,
Verdadeira, pura...
Enquanto durar*

Cora Coralina

Homenagem e Dedicatória

À minha amada MÃE ...

Uma mãe é capaz de dar tudo sem receber nada. De amar com todo o seu coração sem esperar nada em troca. De investir tudo em um projeto sem medir a rentabilidade que lhe trará de volta. Uma mãe segue tendo confiança em seus filhos quando os outros já a perderam.

Sou grata por Deus ter colocado a senhora em minha vida. Te amo hoje, amanhã e sempre. Minha rainha sem coroa, meu diamante, meu raio solar que me ilumina todos os meus dias, mesmo que ocorram discussões entre nós em poucos minutos já estamos bem.

Durante anos, você cuidou de mim e contava belas histórias e antes de terminar você me cobria e via que eu já havia pegado no sono... Passarei a fazer isso contigo, e quando você estiver bem velhinha farei questão de dar comida em tua boca, contar histórias para você dormir e nunca te deixarei.

Obrigado por ser minha mãe.

À meu amado PAI ...

Pai, gostaria de tentar expressar o meu amor por você, mas isso é impossível, pois o meu amor é inexplicável, a única coisa que eu sei é que você é essencial para minha vida.

Pai, obrigado por todos os momentos da minha vida, obrigada pelos carinhos, obrigado pela super proteção, obrigado pelos conhecimentos, obrigado por tudo que eu tenho hoje, obrigado Pai por você ser um SUPER PAI.

Você é a pessoa que eu sei que posso sempre confiar, a pessoa que está sempre pronta para me ajudar e, acima de tudo, é a pessoa que eu convivo e, compartilho os meus melhores e piores momentos. Pai, você é o único homem que está sempre por perto, e que faria tudo por mim.

Agradecimento Especial

À Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi

Quero agradecer de uma maneira muito especial a você, profa. Laura, por ter entrado em minha vida de uma forma tão sutil, de uma forma tão fofa que em pouco tempo me conquistou por inteira, e quando menos percebi você já havia se tornado uma pessoa muito especial para mim.

Por quantas vezes me apoiou, estendeu suas mãos nos momentos mais difíceis durante a minha caminhada científica ... Não posso deixar de te agradecer pelos ensinamentos científicos e por ser tão atenciosa comigo mesmo em minhas horas de surtos, de choros, de ansiedades... rsrs

Agradeço também por me fazer sorrir ☺, pelas bobagens ditas, as brincadeiras, as viagens, os abraços e as palavras lindas que me disse por vários momentos.

Em pensar que no primeiro dia que te conheci há 11 anos, não sabia o que fazer, não tinha reação alguma, ficava pensando: meu Deus, o que vou falar, será que ela vai me receber bem? E tenho certeza de que você deve ter pensado o mesmo ... e quem sabe até mais ... aliás, já tinha seus orientados e sabia que cada pessoa tem seu jeito particular de ser, de pensamentos e opiniões diferentes.

E assim, os dias foram passando e cada dia mais, a respeito e a amo. Você tem uma energia tão boa, mas tão boa, que simplesmente é assim: nós orientados quando estamos com quaisquer dificuldades, sabemos que podemos contar com você como se fosse nossa mãe sentimos aquele sorriso sincero no seu rosto, que nos acalma e nos conforta de verdade!

Isso tudo se resume em uma simples palavra AMOR. Uma palavra que apesar de pequena tem um significado enorme. Podemos valorizar este sentimento por cada carícia, por cada gesto meigo seu, por cada bem praticado. Se existe alguém especial, esse alguém é você Laura. Você estará sempre no meu coração, pois te considero como minha segunda mãe e mãe faz parte da nossa vida para sempre ...

TE AMO !

Agradecimentos

- *À minha orientadora Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi, por me orientar na execução deste trabalho.*
- *Ao Prof. Dr. Sérgio Ricardo Batlouni por me inspirar na ideia e execução deste trabalho. Também por me co-orientar e me ajudar nas correções da tese. Ainda sim gostaria de agradecer pela sua amizade, profissionalismo e por seus auxílios em todos os meus momentos de ansiedade e dificuldades no decorrer do doutorado. Meu muito obrigado!*
- *Aos Profs. Dr. Gustavo Manuel Somoza por me dar todo o suporte, me co-orientar e me acolher na Argentina quando fiz uma parte do doutorado na cidade de Chascomús-AR. Serei grata eternamente.*
- *A todos os meus amigos do Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomus (IIB-INTECH).*
- *Dra. Heid Sueli Leme dos Santos por ter aceitado meu convite e participar da banca de defesa com suas preciosas sugestões e também por ter sido minha primeira mãe científica. A Sra. Dra. Heid é simplesmente a responsável por me inspirar nessa área de pesquisa. Para sempre meu muito obrigado!*
- *Dr. Rafael Henrique Nóbrega pelas importantes sugestões na ocasião da qualificação e também por participar da banca de defesa, contribuindo com ideias e conceitos valiosos.*
- *Dr. Sérgio Fonseca Zaiden por não medir esforços em estar participando como integrante da banca de defesa e como sempre pelas suas importantes e preciosas sugestões.*
- *À Fazenda Buriti localizada em Nova Mutum-MT, Piscicultura Andrade Ltda/Fazenda Babilônia, localizada em Vieiras-MG e a Piscicultura Mar & Terra, localizada em Bandeirantes-MS, por fornecerem os animais e espaço.*
- *Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP.*
- *Ao laboratório de Reprodução e Nutrição do Centro de Aquicultura "CAUNESP"*
- *À todos os amigos, professores e funcionários do CAUNESP.*
- *Aos professores, alunos, amigos e funcionários do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP - Jaboticabal, SP.*
- *Aos técnicos do Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Medicina da USP/Ribeirão Preto, Tuca, Tereza e José, pelo auxílio no processamento da microscopia eletrônica.*
- *Ao Laboratório de Biologia da Reprodução de Peixes Neotropicais – Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu-SP*
- *À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa e apoio financeiro concedido (2009/15392-6).*
- *A CAPES pela bolsa sanduíche (processo n. 0413-12-7) a qual me proporcionou novos horizontes e experiências.*

Agradecimentos Especiais

- *Agradeço a todos que me apoiaram quando estava em busca da realização deste sonho.*
- *Agradeço a Deus por me dar a vida, saúde perfeita e todas as possibilidades de realizar este trabalho.*
- *Aos amigos do departamento: Breno Manzini, Cleonice Cristina Hilbig, Regiane Cristina da Silva, Francine Faustino, Lílian Cristina Makino, Maria do Carmo Faria Paes, Sheryll Corchuelo, Marcelo Henrique Correa Assunção, Matheus Pereira dos Santos e Nivaldo Ferreira do Nascimento pelas horas de convivência, amizade, momentos de descontração e aprendizagem que ficarão para sempre em minha memória.*
- *Ao Sr. Orandi Mateus histotécnico do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAVJ/UNESP pela amizade, paciência, confiança e toda dedicação durante todos esses anos de convivência. Obrigado por fazer o seu melhor nos cortes histológicos e proporcionar um trabalho de qualidade.*
- *William, Clara e Wagner por nos auxiliar e trazer felicidade ao nosso ambiente de trabalho no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.*
- *A Pós-Graduação em especial a Veralice Cappatto e David Lorente que nunca mediram esforços para me atender e me auxiliar em tudo que foi preciso durante todo esse tempo.*
- *À profa Irani Quagio-Grassiotto e Talita Mazzoni pelo auxílio e colaboração na preparação das lâminas. Muito obrigada!*
- *À Elaine Cristina Batista dos Santos por toda ajuda e empenho nas análises estatísticas e também pela amizade e carinho.*
- *À equipe Mar & Terra: Arno S. Seerig, Thiago T. Ushizima, Carmem da Silva, Thayra Silva, Jamila P. da Silva, Lindomar Alves, Olívia, Possidônio e a todos que de alguma forma me ajudaram durante todo o período experimental.*
- *Aos amigos e colegas de pós-graduação do CAUNESP pela companhia, trocas de experiências, festas, viagens, momentos inesquecíveis e amizade.*
- *Ao Rafael Yutaka Kuradomi, Patrick Hainfellner, Thiago Gonçalves de Souza, Camila Nomura Pereira Boscolo, Marianne Schorer, Thiago Scremin Pereira, Eduardo Criscuolo Urbinati pelas ajudas durante os experimentos e trocas de experiências e amizade.*
- *Ao meu pai (Jaime Valentin) e minha mãe (Elídia Francelina Nogueira Valentin) pelo amor incondicional.*
- *Ao meu irmão Marcelo Nogueira Valentin e Flavia Freitas que muitas vezes me auxiliaram nos momentos difíceis.*
- *As minhas queridas amigas, as quais eu considero como minhas irmãs: Deise Garcia e Leticia F. Silvério. Simplesmente obrigado por existir! Obrigado por fazer parte da minha vida hoje e sempre!*
- *Ao meu sobrinho e afilhado Jaime Valentin Neto e aos meus afilhados Otávio Garcia Rezende, Cauã Flores Silvério e Natã Flores Silvério pelas alegrias que me proporcionam a cada dia.*
- *Aos amigos da República Balalaika pela convivência de todos esses anos. “Andrea Cristina Scarpa Bosso, Maria do Carmo Faria Paes, Regiane Cristina da Silva, Francine Faustino pelas horas de*

ensinamentos, paciência, amizade, irmandade e compreensão. Ao José Roberto Ferreira Alves Junior pelos tempos de risadas, amizade e todos os sustos que levei”. Amo vocês meus irmãozinhos!

- *As minhas amigas de apartamento do “Santa Felicidade”: Bruna Orse, Dani Soares, Valquíria Alencar e Sheryll Corchuelo pelos momentos de descontrações e alegrias. Jamais terei como agradecer-lhes por tanta cumplicidade e amizade!*

Sumário

Processo de diferenciação gonadal em <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> e tentativa de feminilização com 17β-estradiol.	xii
Resumo geral	xii
General abstract.....	xiii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Gonadogênese e diferenciação das células germinativas	2
2.2. Aspectos morfológicos da diferenciação sexual gonadal	3
2.3. Eventos da diferenciação ovariana	4
2.3.1. Estrutura Ovariana	4
2.3.2. Epitélio Germinativo e Foliculogênese	5
2.4. Eventos da diferenciação Testicular	5
2.4.1. Estrutura Testicular	6
2.4.2. Tipos celulares	6
2.5. Esteroidogênese em peixes	7
3. OBJETIVOS	10
3.1. Objetivo geral	10
3.2. Objetivos específicos	10
4. CONCLUSÕES	11
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	12
6. REFERÊNCIAS.....	13

Processo de diferenciação gonadal em *Pseudoplatystoma fasciatum* e tentativa de feminilização com 17 β -estradiol.

Resumo geral

O *Pseudoplatystoma fasciatum* é uma espécie nobre que apresenta carne sem espinhos, sabor delicado e textura firme. Nesta espécie, as fêmeas atingem maior tamanho e apresentam melhores taxas de crescimento que os machos. Assim, o objetivo desde trabalho foi descrever o processo de desenvolvimento e diferenciação gonadal do *P. fasciatum* e avaliar a possibilidade da feminilização com uso do hormônio 17 β -estradiol. Para a descrição da diferenciação e desenvolvimento gonadal, os juvenis de *P. fasciatum* foram obtidos por meio de reprodução induzida de reprodutores mantidos em diversas estações de reprodução e pisciculturas de reprodução induzida (Centro de Aquicultura da UNESP “CAUNESP”, piscicultura Andrade e piscicultura Mar & Terra); já para o tratamento hormonal, os juvenis foram obtidos e mantidos na piscicultura Mar & Terra. As coletas para a diferenciação e desenvolvimento gonadal foram realizadas em tempos pré-estabelecidos, iniciando a partir de 39 dias pós-fertilização (dpf) e até completarem 240 dpf. Para o tratamento hormonal os juvenis com 39dpf receberam ração incorporada com 17 β -estradiol e alimentados diariamente até a saciedade. Foi utilizado um grupo controle e três grupos tratados (50, 100, 150mg/Kg de ração comercial extrusada com 40% de proteína bruta). As coletas iniciaram com 39 dpf e depois periodicamente nos seguintes tempos 45, 57, 70, 100 dpf. Aos 39 dpf observaram-se pares de gônadas indiferenciadas como estruturas simples, localizadas dorsalmente ao intestino e ventralmente ao rim. Entre 39 e 45 dpf observamos pela primeira vez evidências histológicas no início de diferenciação em gônada feminina e gônada masculina. Com 60 a 70 dpf as diferenças externas e internas das gônadas femininas e masculinas permitiam a identificação morfológica de precursores de ovários e testículos, porém, tanto a gônada feminina quanto a masculina eram constituídas principalmente por células somáticas e raras células germinativas do tipo indiferenciadas, denominadas de oogônias para gônadas femininas e espermatogônias para gônadas masculinas. No período de 100 a 113 dpf as gônadas de ambos os sexos aumentaram de tamanho e as gônias proliferaram e tornaram diferenciadas, contendo ninhos com cistos de oogônias na gônada feminina e cistos de espermatogônias na gônada masculina. Além disso, na gônada feminina surgiram pequenas projeções a partir da túnica albugínea em direção a cavidade ovariana, enquanto que na gônada masculina observou-se a formação da túnica albugínea e dos túbulos seminíferos. No intervalo de 120 a 150 dpf observamos pela primeira vez oócitos em prófase I. No mesmo período, a gônada masculina continha apenas espermatogônias e células de Sertoli. Com 180 dpf a gônada feminina apresentava oócitos diplotênicos, células pré-foliculares, alguns folículos ovarianos com oócitos em crescimento primário, espaços extravasculares e estroma ovariano. O ovário estava completamente formado com 240 dpf contendo cistos de oogônias, folículos ovarianos, células somáticas e foliculares. Também estavam evidentes nessa fase o epitélio germinativo e a túnica albugínea. Na gônada masculina no período de 180 a 240 dpf, observou-se pela primeira vez a presença de espermátócitos primários no interior de cistos. Para o tratamento hormonal, as dosagens com 17 β -estradiol e/ou o tempo de administração avaliado em cada período de tratamento (45, 60, 70, 100 dpf) não foram efetivos ($p > 0,05$) para inversão sexual em *P. fasciatum*, porém, a média geral de porcentagem de fêmeas e machos no final do experimento mostrou uma tendência para a feminilização. Também não houve diferenças significativas entre a média geral do comprimento total entre fêmeas e machos ($p > 0,05$), sendo observado um crescimento linear e correlação positiva ($p < 0,05$) para o comprimento em função do peso em ambos os sexos. Além disso, anormalidades não foram identificadas nas gônadas em nenhum dos tratamentos. Pode-se concluir que a diferenciação externa das gônadas ocorreu precocemente devido ao dimorfismo sexual em relação à proliferação das células somáticas, sendo que as gônadas femininas diferenciaram previamente às gônadas masculinas. Além disso, conclui-se que o período lábil (anterior à diferenciação sexual) para *P. fasciatum* ocorre antes de 39 dias pós-fertilização e a administração hormonal deve-se iniciar antes desse período.

Palavras-chave: histologia, gônada, reprodução, inversão sexual.

Process of gonadal differentiation in *Pseudoplatystoma fasciatum* and attempted feminization with 17 β -estradiol.

General abstract

Pseudoplatystoma fasciatum is an important species, with unspined meat, delicate flavor and firm texture. Females of this species reach larger sizes and have better growth rates than males. The objective of this study was to describe the gonad development and differentiation of *P. fasciatum* and evaluate the potential feminization effect of the 17 β - estradiol hormone. For development and gonadal differentiation description, *P. fasciatum* juveniles were obtained through the hormonal induction of various breeders maintained in different reproductive stations and fish farms of induced reproduction (Centro de Aquicultura Unesp "CAUNESP", Andrade and Mar&Terra piscicultures); for the hormonal treatment juveniles were obtained and maintained in Mar&Terra pisciculture. Samples for development and gonadal differentiation were performed on pre-set points starting from 39 days post-fertilization (dpf) until complete 240 dpf. For the hormonal treatment juveniles (39 dpf) were fed daily to satiation with artificial food incorporated with 17 β -estradiol. We used a control group and three treated groups (50, 100, 150mg/kg of commercial extruded feed containing 40% crude protein). Sampling started at 39 (dpf) and periodically at the following times 45, 57, 70 and 100 dpf. At 39 dpf gonads were undifferentiated observed as simple structures, located ventrally to intestine and dorsally to kidney. From 39 to 45 dpf we observed the first histological clues of female and male gonad differentiation. At 60-70 dpf the external and internal differences of male and female gonads enabled the morphological identification of ovaries and testes precursors, however, both the male and the female gonad consisted mainly of somatic cells and rare germ cells of the undifferentiated type, referred as oogonia for female gonads and spermatogonia for male gonads. From 100 to 113 dpf, gonads from both sexes increased in size and gonias proliferate and became differentiated, containing nests with oogonia cysts in the female gonad and spermatogonial cysts in the male gonad. Furthermore, in the female gonad small projections appeared from the tunica albuginea toward ovarian cavity, while in male gonad we observe the tunica albuginea and seminiferous tubules formation. From 120 to 150 dpf, we observe for the first time oocytes in prophase I. At the same stage, male gonad only contained spermatogonia and Sertoli cells. At 180 dpf the female gonad had diplotenic oocytes, pre-follicular cells, some ovarian follicles with oocytes in primary growth, extravascular spaces and the ovarian stroma. The ovary was fully formed at 240 dpf, containing oogonial cyst, ovarian follicles, follicular and somatic cells. At this stage were also evident the germinal epithelium and tunica albuginea. In the male gonad in the period from 180 to 240 dpf, we observe for the first time the presence of primary spermatocytes within cysts. The hormonal treatments with 17 β -estradiol and the administration time evaluated in each stage (45, 60, 70, 100 dpf) were not effective ($p > 0.05$) for *P. fasciatum* sex reversal, however the overall average of female and male percentage at the final stage of the experiment show a trend to feminization. No significant differences were observed between the total length mean of males and females ($p > 0.05$), being observed a linear growth and a positive correlation ($p < 0.05$) for the length depending on the weight in both sexes. No gonads abnormalities were identified in any of the treatments. We can conclude that external differentiation of gonads occurred prematurely due to sexual dimorphism in the proliferation of somatic cells, because female gonads differentiated prior to the male gonads. Furthermore, we concluded that the labile period (prior to sexual differentiation) of *P. fasciatum* occurs before 39 days post-fertilization and hormonal treatment should be started before this time.

Keywords: histology, gonads, reproduction, sexual inversion.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O *Pseudoplatystoma fasciatum* pertence à ordem dos Siluriformes e são nativos das bacias hidrográficas da América do Sul. É uma espécie de bagre com porte avantajado, hábito alimentar noturno e podem alcançar até 1,52 m de comprimento (AGOSTINHO et al., 2004). Em cativeiro alcançam 2 Kg no primeiro ano, tamanho estipulado para o mercado (CAMPOS, 2005). Na aquicultura, esta espécie apresenta alto valor, em razão da qualidade de sua carne (ROUBACH et al., 2003), o que tem despertado interesse dos piscicultores (BALDISSEROTO e GOMES, 2005).

De acordo com Miranda e Ribeiro (1997), trata-se de uma das espécies piscícolas de água doce mais importantes do Brasil, com importância histórica na produção da pesca. Baldisseroto e Gomes (2005), afirmaram que o surubim cultivado já tem uma participação significativa nas vendas em vários mercados, sendo normalmente comercializado por valores superiores ao produto oriundo da pesca extrativista, aumentando assim sua importância na aquicultura com meio de suprir tal demanda. Ainda assim, a produção anual é baixa (1.592,5 toneladas) quando comparada com outras espécies nativas como o tambaqui (30.598,5 toneladas), o matrinxã (2.899,5 toneladas) e o pacu (12.397,0 toneladas) (IBAMA, 2008). Nesta espécie as fêmeas atingem tamanhos superiores e apresentam taxas de crescimento superior à dos machos (ROMAGOSA et al., 2003; THEODORO, 2004) fator este que pode ser aproveitado para incrementar o rendimento da produção em cativeiro.

Aspectos diversos relacionados à produção do *P. fasciatum* tem sido explorados, tais como: seu crescimento e interações biométricas (MATEUS e PETRERE JR., 2004), larvicultura (ANDRADE et al., 2004), genética (REVALDAVES et al., 2005), nutrição (GONÇALVES e CARNEIRO, 2003; MARTINO et al., 2005), estresse fisiológico (MORAES e BIDINOTTO, 2000; LIMA et al., 2006) e reprodução (SATO et al., 1997; BRITO e BAZZOLI, 2003; CAROLSFELDT et al., 2003; BATLOUNI; ROMAGOSA e BORELLA, 2006). No entanto, o início do processo de diferenciação gonadal nesta espécie ou “período lábil” é definido como o tempo em que as gônadas indiferenciadas apresentam capacidade de resposta frente a uma ação de esteróides exógenos ou xenoestrógenos (STRUSSMANN, MORIYAMA; et al., 1996; STRUSSMANN et al., 1997; WILLIAMS; LECH e BUHLER, 1998; PIFERRER, 2001; MARLATT; HEWITT e VAN DER KRAAK, 2006). Esse período não é conhecido e trata-se de ferramenta fundamental para a tentativa de feminilização da espécie.

Segundo Pandian e Sheela (1995) métodos de direcionamento sexual são empregados em diversas espécies durante o período lábil, sendo que a mais comum é a técnica de inversão sexual, apresentando diversas metodologias, tais como, imersão em hormônio (BOMBARDELLI et al., 2007), fornecimento de hormônio por meio de ração (MAINARDES-PINTO et al., 2000; MEURER; HAYASHI e BOSCOLO, 2003; MEURER et al., 2005; NAKAGHI et al., 2009), controle de temperatura (AZUMA et al., 2004; ABOZAID; WESSELS e HOERSTGEN-SCHWARK, 2012; ATHAUDA; ANDERSON e DE NYS, 2012; ZANONI et al., 2013), manipulação cromossômica (ÁVILLA e ROMAGOSA, 2004) e manipulação em nível molecular (BHANDARI et al., 2004).

Neste contexto, a descrição do processo de diferenciação e desenvolvimento gonadal da espécie *Pseudoplatystoma fasciatum* por meio de técnicas microscópicas, tem como o objetivo analisar detalhadamente a temporização e os eventos morfológicos do desenvolvimento do ovário e testículo, assim como também os processos envolvidos. Adicionalmente, a utilização do hormônio feminino 17 β -estradiol-E2 na ração é necessária para produção de peixes monosexos, incrementando a produção em cativeiro desta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Gonadogênese e diferenciação das células germinativas

Embora haja muitos trabalhos relacionados à gonadogênese e diferenciação das células germinativas em peixes teleósteos (YOSHIKAWA e OGURI, 1978; STRUSSMANN, COTA; et al., 1996; GRANDI e COLOMBO, 1997; NAKAMURA et al., 1998; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002), estes não detalharam a formação de estruturas gonadais ao longo do processo de diferenciação. No entanto, estudos histológicos durante os processos de morfogênese das gônadas, são importantes para um melhor entendimento dos mecanismos de diferenciação sexual gonadal (NAKAMURA et al., 1998) como também auxiliam a desenvolver métodos e ferramentas eficientes para direcionar o sexo das espécies pertencentes à aquicultura (HUNTER e DONALDSON, 1983; FOYLE, 1993; STRUSSMANN; TAKASHIMA e TODA, 1996).

Em anfíbios, peixes cartilaginosos e na maioria dos vertebrados, o primórdio gonadal possui uma dupla origem, caracterizada por dois tipos distintos de proliferação celular. Um tipo de proliferação ocorre na região cortical, como alongamentos somáticos nas cristas genitais, dando origem a um ovário. Outro tipo se prolifera na região medular, a qual é destinada a dar origem aos testículos (HOAR, 1969). Em contraste, nos teleósteos acredita-se que o primórdio gonadal é de origem simples, portanto, as células somáticas do estroma

gonadal dão origem a um único primórdio que se desenvolve diretamente no epitélio peritoneal (córtex), como observado por Nakamura (1978) para sete espécies de cinco famílias (Tilápia mossambica, *Oreochromis mossambicus*; salmão masu, *Oncorhynchus masou*; salmão chum, *Oncorhynchus keta*; whitespotted char, *Salvelinus leucomaenis*; goldfish, *Carassius auratus*; medaka e top minnow, *Gambusia affinis*). Independentemente do primórdio gonadal ter origem simples ou dupla, as células germinativas primordiais estão dentro ou migram para a região cortical da gônada para constituir o epitélio germinativo (HOAR, 1969).

2.2. Aspectos morfológicos da diferenciação sexual gonadal

As interações entre células germinativas, células somáticas adjacentes e tecidos especializados de outros órgãos possuem um papel fundamental no desenvolvimento do sexo funcional em peixes (YAMAMOTO, 1969; NAKAMURA et al., 1998).

As gônadas rudimentares originam-se de espessamentos do mesoderma conhecidos como cristas germinativas, que se projetam para dentro da cavidade celômica, as quais se localizam ventralmente ao rim e lateralmente ao mesentério dorsal, sendo delimitada pelo mesotélio ou epitélio celomático (NAKAMURA et al., 1998; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; OTANI et al., 2005). Tais gônadas podem permanecer sob um período de crescimento somático lento sem diferenciação ou atividade germinativa histológica aparente, o qual pode durar dias, meses ou até anos dependendo da espécie. Este período de inatividade relativa, em algumas espécies, é seguido pelo aparecimento de características histológicas que sinalizam o início da diferenciação sexual em testículos ou ovários (gonocorísticos “diferenciados”). Em outras espécies, denominadas de gonocorísticas “indiferenciadas”, o aparecimento das características histológicas da diferenciação gonadal marcam o início de uma fase intermediária (toda fêmea ou intersexual), a qual é posteriormente seguida por diferenciação em ovários ou testículos definitivamente (YAMAZAKI, 1983; STRÜSSMANN e NAKAMURA, 2002; MEIJIDE; LO NOSTRO e GUERRERO, 2005).

De acordo com Strüssmann e Nakamura (2002), outra característica distinta do desenvolvimento das gônadas dos teleósteos (em relação aos anfíbios e a maioria dos vertebrados), é o desenvolvimento do sistema gonoducto. Em fêmeas, é por meio do gonoducto que ocorre a liberação dos oócitos ovocitados durante a desova, assim como também a liberação do esperma maduro nos machos no período reprodutivo. Em vertebrados, exceto peixes, os ductos de Müller e os de Wolf desempenham embriologicamente, um papel importante na formação do útero nas fêmeas e ducto eferente nos machos, respectivamente.

Em contraste, o sistema de gonoducto na maioria dos peixes teleósteos é formado por diferentes processos morfogenéticos.

2.3. Eventos da diferenciação ovariana

Na maioria dos teleósteos gonocóricos estudados até o momento, a diferenciação sexual feminina é precoce e antecede à masculina. O início da diferenciação ovariana caracteriza-se pelo início da proliferação celular (mitose e meiose) e o surgimento de arranjos peculiares entre as células somáticas que formarão a cavidade ovariana (STRÜSSMANN e NAKAMURA, 2002).

Relata-se uma intensa proliferação mitótica das células germinativas e a formação de ninhos logo antes do início da meiose (STRÜSSMANN e NAKAMURA, 2002). Em algumas espécies, as divisões mitóticas das células germinativas precedem a meiose e também a proliferação mitótica das células somáticas (início da formação da cavidade ovariana). Geralmente a meiose e a proliferação das células somáticas ocorrem simultaneamente em fêmeas. Porém, somente em algumas espécies a diferenciação somática precede a diferenciação germinativa como é o caso dos ciprinídeos (JENSEN e SHELTON, 1983), das enguias (COLOMBO e GRANDI, 1996) e salmonídeos (NAKAMURA, 1982).

Um dos processos celulares para a formação da cavidade ovariana é a proliferação de células somáticas nas extremidades das gônadas e conseqüentemente o surgimento de protuberâncias. Estas se projetam umas sobre as outras até a sua fusão, formando assim uma cavidade ampla ao longo da gônada. Processos com estas características foram observados e descritos na tilápia mossambica *Oreochromis mossambicus* (NAKAMURA e TAKAHASHI, 1973), tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* (NAKAMURA e NAGAHAMA, 1985) e peixe-rei *Odontesthes bonariensis* (STRÜSSMANN; TAKASHIMA e TODA, 1996).

2.3.1. Estrutura Ovariana

Na maioria dos teleósteos, os ovários são órgãos pares, saculiformes, alongados e localizam-se dentro da cavidade celomática (NAGAHAMA, 1983). De acordo com as características anatômicas, os ovários de teleósteos podem ser de dois tipos: (a) o tipo cistovariano, no qual o lúmen ovariano tem continuidade com o oviduto, por meio do qual os ovócitos alcançam o meio externo; e (b) do tipo gimnovariano, no qual o oviduto está ausente, de modo que os ovócitos são liberados diretamente na cavidade celômica para depois alcançar o meio externo (HOAR, 1969). Os ovários são revestidos pela túnica albugínea (constituída de tecido conjuntivo denso), a qual emite projeções (lamelas) dividindo o ovário em compartimentos (BERNARDES e DIAS, 2000). Margeando as lamelas ovígeras e

consequentemente delimitando o lúmen ovariano, encontra-se o epitélio germinativo (MAZZONI; GRIER e QUAGIO-GRASSIOTTO, 2010).

2.3.2. Epitélio Germinativo e Foliculogênese

O epitélio germinativo difere de todos os outros epitélios, pois possuem células germinativas, as quais se diferenciam em gametas femininos (oócitos) ou masculinos (espermatozóides). As células somáticas se tornam células pré-foliculares quando se associam a um oócito meiótico no epitélio germinativo. Juntas, as células pré-foliculares e os oócitos dão início a foliculogênese formando um folículo. No final da foliculogênese, o folículo é envolvido completamente por uma membrana basal e as células pré-foliculares tornam-se células foliculares (GRIER; URIBE e PARENTI, 2007; QUAGIO-GRASSIOTTO et al., 2011).

Uma vez que o folículo ovariano é formado, ou seja, quando o processo de foliculogênese se completa, o oócito inicia efetivamente seu crescimento primário (GRIER; ARANZÁBAL e PATIÑO, 2009), conhecido também por crescimento pré-vitelogênico (WALLACE e SELMAN, 1981; NAGAHAMA, 1983; SELMAN e WALLACE, 1989). Nessa fase, ocorre o aparecimento dos alvéolos corticais no ooplasma periférico, os quais contêm glicoproteínas que são liberadas no espaço perivitelínico no momento da fertilização, constituindo um bloqueio à poliespermia (HART, 1990). O aparecimento dos alvéolos corticais marca a etapa final do crescimento primário dos oócitos (PATINO e SULLIVAN, 2002; GRIER; ARANZÁBAL e PATIÑO, 2009). A partir daí os oócitos estarão prontos para responder aos estímulos que conduzem à incorporação de vitelo, maturação e posterior ovulação (GRIER; ARANZÁBAL e PATIÑO, 2009).

2.4. Eventos da diferenciação Testicular

Em machos gonocorísticos diferenciados, os elementos germinativos e somáticos geralmente permanecem em repouso durante um longo período. Em muitas espécies estudadas (STRUSSMANN; TAKASHIMA e TODA, 1996), o ducto eferente aparece como uma pequena fenda no tecido estromal. No peixe-rei, *Odontesthes bonariensis*, o atributo para o testículo foi precedido por um arranjo de células somáticas em volta da região hilar, precedendo a formação do ducto espermático (STRUSSMANN; TAKASHIMA e TODA, 1996). A diferenciação testicular se inicia pela intensa proliferação mitótica das células germinativas e a formação de cistos germinativos na periferia da gônada. No entanto, este processo ocorre tardiamente em relação à ovogênese (NAKAMURA e NAGAHAMA, 1985; 1989; STRUSSMANN; TAKASHIMA e TODA, 1996).

2.4.1. Estrutura Testicular

Testículos são órgãos pares, dorsalmente localizados na cavidade celomática, conectados à vesícula gasosa na porção cranial e aos rins na porção caudal. Em algumas espécies de teleósteos, os testículos são formados por franjas de diferentes tamanhos e formas ao longo de toda superfície, como demonstrado em *P. fasciatum* (BATLOUNI; ROMAGOSA e BORELLA, 2006). Quanto a morfologia do compartimento germinativo, os testículos podem ser de dois tipos: (a) o tipo lobular apresentam lóbulos que terminam em fundo cego na periferia dos testículos e podem ser encontrados em Perciformes, como o caso do robalo branco *Centropomus undecimalis* (GRIER e TAYLOR, 1998); e (b) o tipo tubular anastomosado, onde túbulos anastomosados percorrem o compartimento germinativo formando uma rede ramificada e anastomosada por todo parênquima testicular (GRIER e ARANZÁBAL, 2009). Os testículos tubulares anastomosados são encontrados principalmente em peixes pertencentes à ordem dos Siluriformes, Lepisosteiformes, Salmoniformes, por exemplo, *Ictalurus punctatus* (PATINO et al., 1996), *Ictalurus natalis*, *Lepisosteus platyrhincus*, *Oncorhynchus mykiss* (GRIER, 1993).

2.4.2. Tipos celulares

Nos testículos de *P. fasciatum* (família Pimelodidae) as espermatogônias primárias, sofrem divisões mitóticas que originam as espermatogônias secundárias, localizadas dentro de espermatocistos. Os dois tipos de espermatogônias se localizam principalmente na região basal dos túbulos seminíferos. Estas se dividem por mitose e entram em meiose através da prófase I (leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno e diacinese). Por conseguinte, após a metáfase e telófase I, os espermatócitos secundários são formados. Com a progressão em telófase II, cada espermatócito secundário origina duas espermatídes que passam pelo processo da espermiogênese, que consiste na diferenciação das espermatídes em espermatozóide. No final da espermiogênese, os cistos se rompem e os espermatozóides são liberados para o lúmen testicular. Este tipo de espermiogênese é denominado cístico (GRIER, 1981; SELMAN e WALLACE, 1986; GRIER, 1992; CARVALHO e RECCO-PIMENTEL, 2001; BATLOUNI; ROMAGOSA e BORELLA, 2006; GRIER e ARANZÁBAL, 2009; SCHULZ et al., 2010)

Durante o processo de diferenciação testicular, as células de Sertoli, com formato piramidal, aderem à lâmina basal dos túbulos seminíferos e envolvem as células da linhagem espermatogênica dentro dos cistos. As células de Sertoli tem função importante na nutrição, na proliferação e/ou diferenciação e no suporte das células germinativas (CARVALHO e

RECCO-PIMENTEL, 2001; MRUK e CHENG, 2004; SCHULZ et al., 2005; CASSEL; NEVES DA SILVA e FERREIRA, 2013).

No compartimento intersticial há tipos celulares e tecidos que são extremamente importantes, como células mióides, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (CAUTY e LOIR, 1995). Outro tipo celular encontrado são as células de Leydig que apresentam função esteroidogênica, importante para a diferenciação sexual e regulação da espermatogênese (SKAAR et al., 2011).

2.5. Esteroidogênese em peixes

Os hormônios esteróides são derivados do colesterol e as cinco maiores classes incluídas são os progestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos e estrógenos (MATHEWS; AHERN e VAN HOLDE, 2002). Tais hormônios esteróides não são liberados logo após a síntese; sendo os níveis de hormônios circulantes controlados principalmente por sinais provenientes do cérebro (MATHEWS; AHERN e VAN HOLDE, 2002). As principais rotas bioquímicas deste processo são bastante conservadas em vertebrados, apesar de rotas complementares e não tradicionais ocorrerem nos peixes teleósteos, resultando em esteróides diferenciais (Figura 1). Com frequência, estes esteróides diferenciais tomam funções análogas dos esteróides de mamíferos, os quais em peixes podem chegar a ser meros intermediários da síntese de outros produtos finais (NAGAHAMA et al., 2004).

Classicamente, estrógenos e andrógenos têm sido associados às características de fêmeas e machos, respectivamente. No entanto, estes esteróides não são exclusivos de um sexo específico, uma vez que a esteroidogênese é constituída por uma série de rotas metabólicas interdependentes como ilustra a Figura 1 abaixo. Onde é possível observar de forma resumida as principais rotas da esteroidogênese nos peixes teleósteos. A interdependência das rotas é notada, por exemplo, na síntese de estrógeno; o qual é produzido a partir da aromatização dos andrógenos através da enzima aromatase P450 (P450arom), que é responsável pela mudança do sexo masculino para feminino (conversor de testosterona para 17 β -estradiol), também chamada de aromatase gonadal ou aromatase ovariana. A Figura 1 também ilustra a síntese de 11-cetotestosterona (11-CT), o principal andrógeno produzido nas gônadas dos peixes. A testosterona sofre ação da P450 11 β hidroxilase (P45011 β), que dará origem a 11 β -hidroxitesterona (11 β OHT) (não ilustrado na figura) que por sua vez é convertido em 11-CT pela enzima 11 β -hidroxisteroidesidrogenase (11 β HSD) (YARON, 1995; SCHULZ e NOBREGA, 2011).

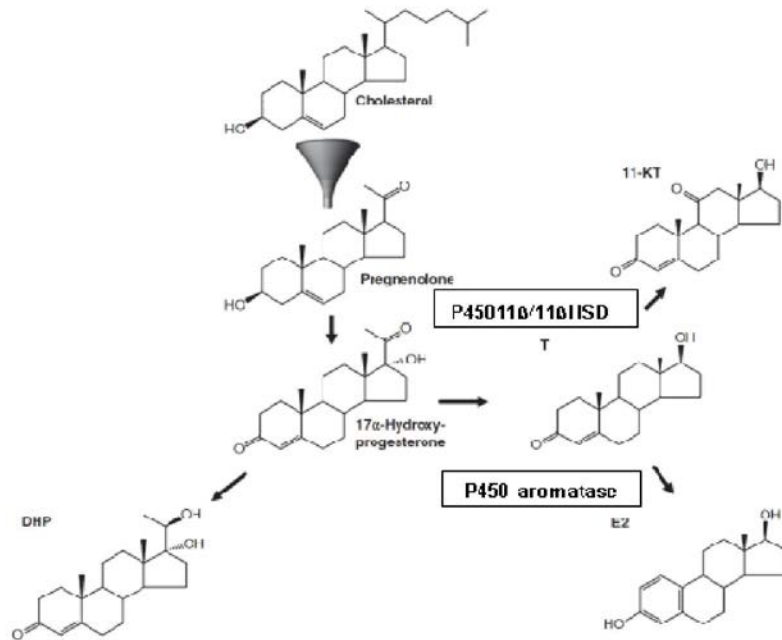


Figura 1. Esquema resumido das principais rotas da esteroidogênese nos peixes teleósteos. O colesterol, precursor de todos os esteróides, é convertido em pregnenolona, o qual é metabolizado em 17 α -hidroxiprogesterona que a partir dele são formados todos os esteróides sexuais, DHP (dihidroprogesterona), T (testosterona), E2 (estradiol) e 11-CT (11-cetotestosterona). As enzimas P450aromatase (P450arom) e P450 11 β -hidroxilase (P45011 β) / 11 β -hidroxisteroidesidrogenase (11 β HSD) estão envolvidas na formação de E2 e 11-KT, respectivamente a a partir da testosterona (SCHULZ e NOBREGA, 2011).

A produção dos esteróides sexuais é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise, através da liberação de gonadotropinas, FSH (hormônio foliculo estimulante) e LH (hormônio luteinizante), sendo que trabalhos mais recentes têm demonstrado que o FSH possui um potencial esteroidogênico maior que o LH (SCHULZ et al., 2010). Desta forma, alterações hormonais podem não só afetar a reprodução em peixes adultos, mas também podem interferir no processo de diferenciação gonadal (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002). Neste sentido é necessário destacar que a administração de esteróides sexuais no momento da determinação sexual, pode influenciar fortemente no caminho da diferenciação gonadal (YAMAMOTO, 1969; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; MATSUDA, 2003).

Durante o desenvolvimento das gônadas existe uma etapa conhecida como período lábil, que é definida como o tempo em que as gônadas indiferenciadas apresentam capacidade de resposta frente a uma ação de esteróides exógenos ou xenoestrógenos (STRUSSMANN, MORIYAMA; et al., 1996; STRUSSMANN et al., 1997; WILLIAMS; LECH e BUHLER, 1998; PIFERRER, 2001; MARLATT; HEWITT e VAN DER KRAAK, 2006).

Nos tratamentos hormonais realizados nesta etapa são necessárias exposições mínimas e doses também baixas para obter o sexo gonadal desejado. Além disso, este período, considerado como espécie-específico, reflete na ocorrência de eventos gonadais que não podem ser visualizados em histologia, apenas por biologia molecular. Tais eventos ocorrem antes dos primeiros sinais de diferenciação gonadal histológica (FERNANDINO et al., 2008).

Atualmente, a maior parte da informação que se tem sobre a aplicação de esteróides no processo de diferenciação gonadal nos peixes provém de tratamentos experimentais com hormônios esteróides, inibidores da síntese dos mesmos e com antagonistas dos receptores de esteróides (NAGAHAMA et al., 2004). Os resultados obtidos são positivos quando se observa uma alteração na relação de sexos, e é interessante destacar que o tipo de ação promovida pelos esteróides sexuais durante o desenvolvimento embrionário e durante a vida juvenil/adulta, não é a mesma. Durante a diferenciação sexual, os esteróides atuam principalmente como fatores morfogenéticos, porém mais tarde atuam como ativadores ou repressores da maturação sexual (PIFERRER, 2001; SCHULZ e NOBREGA, 2011).

A manipulação com esteróides sexuais durante o período de determinação sexual pode direcionar o padrão da expressão de genes envolvidos no processo de diferenciação gonadal e conseqüentemente no seu desenvolvimento. Por exemplo, em embriões de aves, ZW revertidos sexualmente, o tratamento com inibidor de aromatase estimula a expressão de *dmrt1* e uma redução na expressão de aromatase (SMITH; KATZ e SINCLAIR, 2003). Também, existem vários estudos que relacionam a interação entre temperatura e hormônios, como o trabalho realizado por Murdock & Wibbels (2006) e Fernandino et al. (2008), demonstrando que a administração exógena de estrógenos resulta numa redução dos níveis da expressão do gene *dmrt1* durante o período lábil à temperatura.

Em mamíferos, os produtos de outros genes envolvidos na diferenciação gonadal podem estar regulando a esteroidogênese, sendo o hormônio anti-mülleriano (Amh) um dos mais estudados (RACINE et al., 1998). O Amh regula negativamente a expressão da aromatase gonadal, diminuindo assim a aromatização de estrógenos a andrógenos, o que leva à formação do sexo masculino (DICLEMENTE et al., 1992; JOSSO et al., 1998; ROUILLER-FABRE et al., 1998).

Por sua vez, de acordo com Wang e Orban (2007) e Vizziano et al. (2007) o *amh* é o gene candidato a diminuir a expressão da aromatase gonadal (*cyp19a1*) o que levaria ao aparecimento do testículo em zebrafish e na truta arco-íris durante o período de diferenciação gonadal. Em adição aos relatos anteriores, a administração de 17β -etinilestradiol (E2) em zebrafish causa a regulação negativa da expressão de *amh* e *dmrt* (SCHULZ et al., 2007). Em

truta arco-íris, a administração de 17 α -estinilestradiol (EE2) induz a maioria dos genes da diferenciação ovariana (*foxl2a*, *foxl2b*, *fst*, *bmp4* e *fshb*). Concomitantemente, os estrógenos reprimem fortemente alguns dos genes da diferenciação testicular (*amh*, *sox9a2*), embora, outros não sejam suprimidos neste processo (*dmrt1*, *nr0b1*, *sox9a1* e *pax2a*) (RODRIGUEZ-MARI et al., 2005; VIZZIANO et al., 2008).

Assim, visando obter subsídios para embasar futuras tentativas de inversão sexual desta espécie, o objetivo deste trabalho foi conhecer e definir o momento do início do processo de diferenciação gonadal nesta espécie. Uma vez que foi demonstrado que o período lábil (momento antes da diferenciação gonadal) é o período ideal para intervenção hormonal ou por temperatura para que ocorra a inversão sexual. Deste modo, esta pesquisa teve como objetivo descrever histologicamente a diferenciação e desenvolvimento gonadal em fêmeas e machos de *Pseudoplatistoma fasciatum*. Ainda neste contexto, sendo o 17 β -estradiol popularmente conhecido, o objetivo deste trabalho também foi estudar a alteração morfológica da gônada de juvenis de *P. fasciatum* avaliando a influencia deste hormônio sob a reversão sexual dessa espécie.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Descrever os eventos morfológicos durante a diferenciação e o desenvolvimento gonadal e avaliar o efeito do hormônio 17 β -estradiol (E2) sobre a determinação sexual em *P. fasciatum*.

3.2. Objetivos específicos

Descrever histologicamente, através de cortes semi-seriados, as gônadas em formação e o processo de diferenciação e desenvolvimento gonadal de juvenis com 39 a 240 dias pós-fertilização.

Avaliar histologicamente o efeito do hormônio 17 β -estradiol (E2) nas gônadas em formação durante o período de desenvolvimento gonadal (39 a 100 dias pós-fertilização).

4. CONCLUSÕES

Este trabalho fornece informações detalhadas e importantes à cerca do desenvolvimento gonadal e biologia básica do *P. fasciatum*, trazendo conhecimentos inovadores em relação a diferenciação e desenvolvimento gonadal feminino: 1) a proliferação das células somáticas permite identificar precocemente a gônada feminina, diferenciando-a da masculina pela formação da cavidade ovariana, 2) a proliferação das células somáticas antecede a proliferação das células germinativas, 3) a foliculogênese se completa em um período tardio em relação às outras espécies de Siluriformes, provavelmente devido ao *P. fasciatum* ser um peixe de grande porte.

Em relação à diferenciação e desenvolvimento gonadal masculino de *P. fasciatum* este estudo também traz inovações a respeito da proliferação das células somáticas que permitiu identificar precocemente a gônada masculina pela formação dos lobos. Outro fato interessante foi em relação aos movimentos celulares, principalmente das células somáticas, que tinham um direcionamento particular à gônada masculina, indicando que as células germinativas se movimentam passivamente acompanhando o movimento das células somáticas. Vale ressaltar, que diferenciação celular com a entrada da meiose ocorreu em um período tardio comparado a outras espécies e o estágio final da espermatogênese não foi alcançado, muito provavelmente por ser um peixe de grande porte. Este estudo provê conhecimentos relevantes sobre o desenvolvimento gonadal da referida espécie, servindo de referência para posteriores pesquisas de cunho básico e aplicado.

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) de inversão sexual entre os tratamentos com 50, 100, 150 mg/Kg de 17β -estradiol em cada período de tratamento (45, 60, 70, 100 dpf) para inversão sexual em *P. fasciatum*, porém, a média geral de porcentagem de fêmeas e machos no final do experimento mostrou uma tendência para a feminilização ao longo do desenvolvimento gonadal.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante ressaltar que em *P. fasciatum*:

- A diferenciação externa das gônadas ocorreu precocemente em ambos os sexos.
- O desenvolvimento e diferenciação celular das gônadas ocorreram previamente nas gônadas femininas comparadas às gônadas masculinas.
- Portanto, conclui-se que o período lábil (anterior à diferenciação sexual) para *P. fasciatum* ocorre antes de 39 dias pós-fertilização e a administração hormonal deve-se iniciar antes desse período.

6. REFERÊNCIAS

- ABOZAIID, H.; WESSELS, S. e HOERSTGEN-SCHWARK, G. Elevated Temperature Applied during Gonadal Transformation Leads to Male Bias in Zebrafish (*Danio rerio*). **Sexual Development**, v. 6, n. 4, p. 201-209, 2012. ISSN 1661-5425. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000305191400005 >.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; SUZUKI, H. I.; JÚLIO, H. F. J. Migratory fishes of the Upper Paraná River Basin, Brazil. In: CAROSFELD, J.; HARVEY, B., *et al* (Ed.). **Migratory Fishes of South America. Biology, Fisheries, and Conservation Status**: Word Fisheries Trust/World Bank/IDRC, 2004.
- ANDRADE, L. S.; HAYASHI, C.; SOUZA, S. R.; SOARES, C. M. Canibalismo em larvas de pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*, cultivados sob diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum** v. 26, p. 299-302, 2004.
- ATHAUDA, S.; ANDERSON, T. e DE NYS, R. Effect of rearing water temperature on protandrous sex inversion in cultured Asian Seabass (*Lates calcarifer*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 175, n. 3, p. 416-423, Feb 1 2012. ISSN 0016-6480. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000299805300007 >.
- ÁVILLA, M. C. e ROMAGOSA, E. Efeito do choque térmico quente em ovos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*): tempo pós-fertilização e duração do processo na sobrevivência das larvas. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 1, p. 55-64, 2004.
- AZUMA, T.; TAKEDA, K.; DOI, T.; MUTO, K.; AKUTSU, M.; SAWADA, M.; ADACHI, S. The influence of temperature on sex determination in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. **Aquaculture**, v. 234, n. 1-4, p. 461-473, May 3 2004. ISSN 0044-8486. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000221069000029 >.
- BALDISSEROTO, B. e GOMES, L. D. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2005. 468p.
- BATLOUNI, S. R.; ROMAGOSA, E. e BORELLA, M. I. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium - An approach addressed to aquaculture. **Animal Reproduction Science**, v. 96, n. 1-2, p. 116-132, Nov 2006. ISSN 0378-4320. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000241148300012 >.
- BERNARDES, R. A. e DIAS, J. F. Aspectos da reprodução do peixe-porco, *Balistes caprisicus* (Gmelin) (Actinopterygii, Tetraodontiformes, Balistidae) coletado na costa sul do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 17, p. 687-696, 2000.
- BHANDARI, R. K.; KOMURO, H.; HIGA, M.; NAKAMURA, M. Sex inversion of sexually immature honeycomb grouper (*Epinephelus merra*) by aromatase inhibitor. **Zoological Science**, v. 21, n. 3, p. 305-310, Mar 2004. ISSN 0289-0003. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000221742700008 >.

BOMBARDELLI, R. A.; SANCHES, E. A.; PINTO, D. F. H.; MARCOS, R. M.; BARBERO, L. Idade de maior sensibilidade de tilápias-do-nilo aos tratamentos de masculinização por banhos de imersão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1-6, 2007.

BRITO, M. F. G. e BAZZOLI, N. Reproduction of the surubim catfish (Pisces, Pimelodidae) in the São Francisco River, Pirapora Region, Minas Gerais, Brazil **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p. 624-633, 2003.

CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829). In: BADISSEROTO, B. e GOMES, L. C. (Ed.). **Espécies nativas com potencial para a piscicultura**: Editora U.F.S.M, 2005. p.327-343.

CAROLSFELDT, J.; GODINHO, H. P.; ZANIBONI, E.; HARVEY, B. J. Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. **Journal of Fish Biology**, v. 63, n. 2, p. 472-489, Aug 2003. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185632700015 >.

CARVALHO, H. F. e RECCO-PIMENTEL, S. M. **A Célula**. Barueri - Brasil: 2001. ISBN 85-204-1242-4.

CASSEL, M.; NEVES DA SILVA, D. F. e FERREIRA, A. Cytoarchitectonical dynamic of Sertoli cells in *Melanorivulus punctatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Micron**, v. 45, p. 115-118, Feb 2013. ISSN 0968-4328. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000314332700015 >.

CAUTY, C. e LOIR, M. The interstitial - cells of the trout testis (*Oncorhynchus mykiss*) - Ultrastructural Characterization and Changes throughout the reproductive cycle. **Tissue & Cell**, v. 27, n. 4, p. 383-395, Aug 1995. ISSN 0040-8166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RQ25400003 >.

COLOMBO, G. e GRANDI, G. Histological study of the development and sex differentiation of the gonad in the European eel. **Journal of Fish Biology**, v. 48, n. 3, p. 493-512, Mar 1996. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UF79700015 >.

DEVLIN, R. H. e NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, v. 208, n. 3-4, p. 191-364, Jun 21 2002. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000176374700001 >.

DICLEMENTE, N.; GHAFARI, S.; PEPINSKY, R. B.; PIEAU, C.; JOSSO, N.; CATE, R. L.; VIGIER, B. A quantitative and interspecific test for biological-activity of anti-mullerian hormone - the fetal ovary aromatase assay. **Development**, v. 114, n. 3, p. 721-727, Mar 1992. ISSN 0950-1991. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992HL17800017 >.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; SHINODA, T.; KIMURA, H.; STROBL-MAZZULLA, P. H.; STRUESSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. Dimorphic Expression of *dmrt1* and *cyp19a1* (Ovarian Aromatase) during Early Gonadal Development in Pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. **Sexual Development**, v. 2, n. 6, p. 316-324, 2008 2008. ISSN 1661-5425. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000264026900038 >.

FOYLE, T. P. A histological description of gonadal development and sex-differentiation in the coho salmon (*oncorhynchus-kisutch*) for both untreated and estradiol immersed fry. **Journal of Fish Biology**, v. 42, n. 5, p. 699-712, May 1993. ISSN 0022-1112. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1993LD25600007 >.

GONÇALVES, E. G. e CARNEIRO, D. J. Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas de para pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 779-786, 2003.

GRANDI, G. e COLOMBO, G. Development and early differentiation of gonad in the European eel (*Anguilla anguilla* L , Anguilliformes, Teleostei): A cytological and ultrastructural study. **Journal of Morphology**, v. 231, n. 2, p. 195-216, Feb 1997. ISSN 0362-2525. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1997WA97200008 >.

GRIER, H. e ARANZÁBAL, M. C. U. The Testis and Spermatogenesis in Teleosts. In: JAMIESON, B. J. (Ed.). **Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes) Phylogeny Reproductive System Viviparity Spermatozoa**, 2009. p.802.

GRIER, H.; ARANZÁBAL, M. C. U. e PATIÑO, R. The ovary, folliculogenesis and oogenesis. In: JAMIESON, B. J. (Ed.). **Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes) Phylogeny Reproductive System Viviparity Spermatozoa** 2009. p.802.

GRIER, H. J. Cellular-organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **American Zoologist**, v. 21, n. 2, p. 345-357, 1981 1981. ISSN 0003-1569. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1981MA15000004 >.

GRIER, H. J. Chordate testis: the extracellular-matrix hypothesis. **Journal of Experimental Zoology**, v. 261, n. 2, p. 151-160, Feb 1 1992. ISSN 0022-104X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1992HB89000005 >.

GRIER, H. J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell Barrier. In: RUSSEL, L. D. e GRISWALD, M. D. (Ed.). **The Sertoli Cell**. Clearwater: Cache River Press, 1993. p.704-739.

GRIER, H. J. e TAYLOR, R. G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, v. 53, n. 3, p. 521-542, Sep 1998. ISSN 0022-1112. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000075774200005 >.

GRIER, H. J.; URIBE, M. C. e PARENTI, L. R. Germinal epithelium, folliculogenesis, and postovulatory follicles in ovaries of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes). **Journal of Morphology**, v. 268, n. 4, p. 293-310, Apr 2007. ISSN 0362-2525. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000245488800003 >.

HART, N. H. Fertilization in teleosts fishes: mechanisms of sperm-egg interações. **International Review of Cytology**, v. 121, p. 1-66, 1990.

HOAR, W. S. Reproduction. In: HOAR, W. S. e RANDALL, D. J. (Ed.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, v.1, 1969. p.111.

HUNTER, G. A. e DONALDSON, E. M. Hormonal sex control and its application to fish culture. **Fish Physiology**, v. 9, p. 223-303, 1983 1983. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1983SA36600005 >.

IBAMA. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação**. Brasília: Ibama: 174 p. p. 2008.

JENSEN, G. L. e SHELTON, W. L. Gonadal differentiation in relation to sex control of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (pisces, cyprinidae). **Copeia**, n. 3, p. 749-755, 1983 1983. ISSN 0045-8511. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1983RE31700021 >.

JOSSO, N.; RACINE, C.; DI CLEMENTE, N.; REY, R.; XAVIER, F. The role of anti-Mullerian hormone in gonadal development. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 145, n. 1-2, p. 3-7, Oct 25 1998. ISSN 0303-7207. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000077723300002 >.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; MALISON, J. A.; BARRY, T. P.; HELD, J. A. Effects of temperature on performance characteristics and the cortisol stress response of surubim *Pseudoplatystoma sp.* **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 37, n. 1, p. 89-95, Mar 2006. ISSN 0893-8849. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245412700010 >.

MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FENERICH-VERANI, N.; CAMPOS, B. E. S.; SILVA, A. L. Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 654-659, 2000.

MARLATT, V. L.; HEWITT, L. M. e VAN DER KRAAK, G. Utility of in vitro test methods to assess the activity of xenoestrogens in fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 3204-3212, Dec 2006. ISSN 0730-7268. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000242050000016 >.

MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz) fed diets with varying carbohydrate and lipid levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 131-137, Apr 2005. ISSN 1353-5773. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227647300006 >.

MATEUS, L. A. F. e PETRERE JR., M. Age, growth and yield per recruit analysis of pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz 1829) in the Cuiaba Basin River, PantanalMatogrossense, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 257-264, 2004.

MATHEWS, C. K.; AHERN, K. G. e VAN HOLDE, K. E. **Biochemistry**. 3. Madrid: Pearson Education Limited, 2002. 1335.

MATSUDA, M. Sex determination in fish: Lessons from the sex-determining gene of the teleost medaka, *Oryzias latipes*. **Development Growth & Differentiation**, v. 45, n. 5-6, p. 397-403, Oct-Dec 2003. ISSN 0012-1592. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000187907700001 >.

MAZZONI, T. S.; GRIER, H. J. e QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Germ line Cysts and the Formation of the Germinal Epithelium During the Female Gonadal Morphogenesis in *Cyprinus Carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). **Anatomical Record-Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, v. 293, n. 9, p. 1581-1606, Sep 2010. ISSN 1932-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000281498500015 >.

MEIJIDE, F. J.; LO NOSTRO, F. L. e GUERRERO, G. A. Gonadal development and sex differentiation in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes): A light- and electron-microscopic study. **Journal of Morphology**, v. 264, n. 2, p. 191-210, May 2005. ISSN 0362-2525. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000228678000005 >.

MEURER, F.; BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C.; FORNARI, D. C. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 81-85, 2005.

MEURER, F.; HAYASHI, C. e BOSCOLO, W. R. Influência do processamento da ração no desempenho e sobrevivência da Tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p. 262-267, 2003.

MIRANDA, M. O. T. e RIBEIRO, L. P. Características zootécnicas do surubim *Pseudoplatystoma coruscans*. In: MIRANDA, M. O. T. (Ed.). **Surubim**. Belo Horizonte: IBAMA, 1997. p.43-56.

MORAES, G. e BIDINOTTO, P. M. Metabolic impact of handling on *Pseudoplatystoma coruscans*, a widespread teleost fish. International Congress on Biology of Fish, 2000, Aberdeen. p.89-100.

MRUK, D. D. e CHENG, C. Y. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. **Endocrine Reviews**, v. 25, n. 5, p. 747-806, Oct 2004. ISSN 0163-769X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000224281000003 >.

MURDOCK, C. e WIBBELS, T. Dmrt1 expression in response to estrogen treatment in a reptile with temperature-dependent sex determination. **Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution**, v. 306B, n. 2, p. 134-139, Mar 15 2006. ISSN 1552-5007. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000236597100004 >.

NAGAHAMA, Y. The functional-morphology of teleost gonads. **Fish Physiology**, v. 9, p. 223-275, 1983 1983. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1983SA36500006 >.

NAGAHAMA, Y.; NAKAMURA, M.; KITANO, T.; TOKUMOTO, T. Sexual plasticity in fish: a possible target of endocrine disruptor action. **Environmental Sciences**, v. 11, p. 73-82, 2004.

NAKAGHI, L. S. O.; PAES, M. C. F.; MAKINO, L. C.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; MALHEIROS, E. B. Sexagem histológica e desempenho de *Oreochromis niloticus* testando diâmetros de ração de acordo com o aparato bucal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 721-727, 2009.

NAKAMURA, M. **Morphological and experimental studies on sex differentiation of the gonad in several teleost fishes.** 1978. Ph.D. Thesis. (Ph.D. Thesis.). Hokkaido University, Hokkaido,.

NAKAMURA, M. Gonadal sex differentiation in whitespotted char, *Salvelinus leucomaenis*. **Japanese Journal of Ichthyology**, v. 28, n. 4, p. 431-436, 1982 1982. ISSN 0021-5090. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1982NG84600010 >.

NAKAMURA, M.; KOBAYASHI, T.; CHANG, X. T.; NAGAHAMA, Y. Gonadal sex differentiation in teleost fish. **Journal of Experimental Zoology**, v. 281, n. 5, p. 362-372, Aug 1 1998. ISSN 0022-104X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000074620500003 >.

NAKAMURA, M. e NAGAHAMA, Y. Steroid producing cells during ovarian-differentiation of the tilapia, *Sarotherodon niloticus*. **Development Growth & Differentiation**, v. 27, n. 6, p. 701-708, 1985 1985. ISSN 0012-1592. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1985A092500006 >.

NAKAMURA, M. e NAGAHAMA, Y. Differentiation and development of leydig-cells, and changes of testosterone levels during testicular-differentiation in tilapia *Oreochromis niloticus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 7, n. 1-6, p. 211-219, Jun 1989. ISSN 0920-1742. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1989AF55800027 >.

NAKAMURA, M. e TAKAHASHI, H. Gonadal sex differentiation in tilapia, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. **Bulletin of the Faculty of Fisheries**, v. 24, p. 1-13, 1973.

OTANI, S.; KITAUCHI, T.; SAITO, T.; SAKAO, S.; MAEGAWA, S.; INOUE, K.; ARAI, K.; YAMAHA, E. The formation of primordial germ cells from germline cells in spherical embryos derived from the blastodisc of 2-cell embryos in goldfish, *Carassius auratus*. **International Journal of Developmental Biology**, v. 49, n. 7, p. 843-850, 2005 2005. ISSN 0214-6282. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000233799200006 >.

PANDIAN, T. J. e SHEELA, S. G. Hormonal induction of sex reversal in fish. **Aquaculture**, v. 138, n. 1-4, p. 1-22, Dec 15 1995. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1995TP12900001 >.

PATINO, R.; DAVIS, K. B.; SCHOORE, J. E.; UGUZ, C.; STRUSSMANN, C. A.; PARKER, N. C.; SIMCO, B. A.; GOUDIE, C. A. Sex differentiation of channel catfish gonads: Normal development and effects of temperature. **Journal of Experimental Zoology**, v. 276, n. 3, p. 209-218, Oct 15 1996. ISSN 0022-104X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1996VR07900005 >.

PATINO, R. e SULLIVAN, C. V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 57-70, 2002 2002. ISSN 0920-1742. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000182273400006 >.

PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 229-281, Jun 1 2001. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000168775000011 >.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GRIER, H.; MAZZONI, T. S.; NOBREGA, R. H.; AMORIM, J. P. D. Activity of the Ovarian Germinal Epithelium in the Freshwater Catfish, *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes): Germline Cysts, Follicle Formation and Oocyte Development. **Journal of Morphology**, v. 272, n. 11, p. 1290-1306, Nov 2011. ISSN 0362-2525. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000296979700002 >.

RACINE, C.; REY, R.; FOREST, M. G.; LOUIS, F.; FERRE, A.; HUHTANIEMI, I.; JOSSO, N.; DI CLEMENTE, N. Receptors for anti-Mullerian hormone on Leydig cells are responsible for its effects on steroidogenesis and cell differentiation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 2, p. 594-599, Jan 20 1998. ISSN 0027-8424. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000071606000030 >.

REVALDAVES, E.; PEREIRA, L. H. G.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes : Pimelodidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 3, p. 463-465, Sep 2005. ISSN 1471-8278. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000231529400001 >.

RODRIGUEZ-MARI, A.; YAN, Y. L.; BREMILLER, R. A.; WILSON, C.; CANESTRO, C.; POSTLETHWAIT, J. H. Characterization and expression pattern of zebrafish anti-Mullerian hormone (amh) relative to sox9a, sox9b, and cyp19a1, during gonad development. **Gene Expression Patterns**, v. 5, n. 5, p. 655-667, Jun 2005. ISSN 1567-133X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000230037500010 >.

ROMAGOSA, E.; DE PAIVA, P.; GODINHO, H. M.; ANDRADE-TALMELLI, E. F. Características morfológicas e crescimento do cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), mantido em confinamento. **Acta Scientiarum**, v. 25, p. 277-283, 2003.

ROUBACH, R.; CORREIRA, E. S.; ZAIDEN, S. F.; MARTINO, R. C.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil. **World Aquaculture** v. 34, p. 28-34, 2003.

ROUILLER-FABRE, V.; CARMONA, S.; ABOU MERHI, R.; CATE, R.; HABERT, R.; VIGIER, B. Effect of anti-Mullerian hormone on Sertoli and Leydig cell functions in fetal and immature rats. **Endocrinology**, v. 139, n. 3, p. 1213-1220, Mar 1998. ISSN 0013-7227. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000072299800050 >.

SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; SALLUM, W. B.; GODINHO, H. P. Indução experimental da desova do surubim *Pseudoplatystoma corruscans*. In: MIRANDA, M. O. T. (Ed.). **Surubim**. Belo Horizonte: IBMA, v.19, 1997. p.69-79.

SCHULZ, R. W.; BOGERD, J.; MALE, R.; BALL, J.; FENSKE, M.; OLSEN, L. C.; TYLER, C. R. Estrogen-induced alterations in amh and dmrt1 expression signal for disruption in male sexual development in the zebrafish. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 17, p. 6305-6310, Sep 1 2007. ISSN 0013-936X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000249240100066 >.

SCHULZ, R. W.; DE FRANCA, L. R.; LAREYRE, J.-J.; LEGAC, F.; CHIARINI-GARCIA, H.; NOBREGA, R. H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 390-411, Feb 2010. ISSN 0016-6480. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000273765300004 >.

SCHULZ, R. W.; MENTING, S.; BOGERD, J.; FRANCA, L. R.; VILELA, D. A. R.; GODINHO, H. P. Sertoli cell proliferation in the adult testis - Evidence from two fish species belonging to different orders. **Biology of Reproduction**, v. 73, n. 5, p. 891-898, Nov 2005. ISSN 0006-3363. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232789000008 >.

SCHULZ, R. W. e NOBREGA, R. H. Regulation of Spermatogenesis. In: A.P., F. (Ed.). **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**. San Diego: Academic Press, v.1, 2011. p.627-634.

SELMAN, K. e WALLACE, R. A. Gametogenesis in *Fundulus-heteroclitus*. **American Zoologist**, v. 26, n. 1, p. 173-192, 1986 1986. ISSN 0003-1569. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1986A881500014 >.

SELMAN, K. e WALLACE, R. A. Cellular aspects of oocyte growth in Teleosts. **Zoological Science**, v. 6, n. 2, p. 211-231, Apr 1989. ISSN 0289-0003. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1989U806500002 >.

SKAAR, K. S.; NOBREGA, R. H.; MAGARAKI, A.; OLSEN, L. C.; SCHULZ, R. W.; MALE, R. Proteolytically Activated, Recombinant Anti-Mullerian Hormone Inhibits Androgen Secretion, Proliferation, and Differentiation of Spermatogonia in Adult Zebrafish Testis Organ Cultures. **Endocrinology**, v. 152, n. 9, p. 3527-3540, Sep 2011. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294161000024 >.

SMITH, C. A.; KATZ, M. e SINCLAIR, A. H. DMRT1 is upregulated in the gonads during female-to-male sex reversal in ZW chicken embryos. **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 2, p. 560-570, Feb 2003. ISSN 0006-3363. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180644200026 >.

STRUSSMANN, C. A.; COTA, J. C. C.; PHONLOR, G.; HIGUCHI, H.; TAKASHIMA, F. Temperature effects on sex differentiation of two south American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonina hatcheri*. **Environmental Biology of Fishes**, v. 47, n. 2, p. 143-154, Oct 1996. ISSN 0378-1909. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VJ95800004 >.

STRUSSMANN, C. A.; MORIYAMA, S.; HANKE, E. F.; COTA, J. C. C.; TAKASHIMA, F. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. **Journal of Fish Biology**, v. 48, n. 4, p. 643-651, Apr 1996. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UK34700008 >.

STRÜSSMANN, C. A. e NAKAMURA, M. Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, p. 13-29, 2002.

STRUSSMANN, C. A.; SAITO, T.; USUI, M.; YAMADA, H.; TAKASHIMA, F. Thermal thresholds and critical period of thermolabile sex determination in two altherinid fishes, *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 278, n. 3, p. 167-177, Jun 15 1997. ISSN 0022-104X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XE03300006 >.

STRUSSMANN, C. A.; TAKASHIMA, F. e TODA, K. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v. 139, n. 1-2, p. 31-45, Jan 1 1996. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1996UC83700004 >.

THEODORO, A. C. M. **Efeito de peso e de sexo sobre características de processamento de surubins (*Pseudoplatystoma* sp.) cultivados**. 2004. 70p. Dissertação (Mestrado) UFMS, Campo Grande: MS.

VIZZIANO, D.; BARON, D.; RANDUINEAU, G.; MAHE, S.; CAUTY, C.; GUIGUEN, Y. Rainbow trout gonadal masculinization induced by inhibition of estrogen synthesis is more physiological than masculinization induced by androgen supplementation. **Biology of Reproduction**, v. 78, n. 5, p. 939-946, May 2008. ISSN 0006-3363. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000255135200018 >.

VIZZIANO, D.; RANDUINEAU, G.; BARON, D.; CAUTY, C.; GUIGUEN, Y. Characterization of early molecular sex differentiation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Developmental Dynamics**, v. 236, n. 8, p. 2198-2206, Aug 2007. ISSN 1058-8388. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000248838400015 >.

WALLACE, R. A. e SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. **American Zoologist**, v. 21, n. 2, p. 325-343, 1981 1981. ISSN 0003-1569. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1981MA15000003 >.

WANG, D.-S.; KOBAYASHI, T.; ZHOU, L.-Y.; PAUL-PRASANTH, B.; IJIRI, S.; SAKAI, F.; OKUBO, K.; MOROHASHI, K.-I.; NAGAHAMA, Y. Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with Ad4 binding protein/steroidogenic factor 1. **Molecular Endocrinology**, v. 21, n. 3, p. 712-725, Mar 2007. ISSN 0888-8809. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000244407400011 >.

WILLIAMS, D. E.; LECH, J. J. e BUHLER, D. R. Xenobiotics and xenoestrogens in fish: modulation of cytochrome P450 and carcinogenesis. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 399, n. 2, p. 179-192, Mar 20 1998. ISSN 0027-5107. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000074337700006 >.

YAMAMOTO, T. Sex differentiation. In: HOAR, W., RANDALL, D. (Ed.). **Fish Physiology**: Academic Press, 1969. p.117-175.

YAMAZAKI, F. Sex Control and Manipulation in Fish. **Aquaculture**, v. 33, n. 1-4, p. 329-354, 1983 1983. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1983QX51900033 >.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**, v. 129, n. 1-4, p. 49-73, Jan 1995. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1995QG21400003 >.

YOSHIKAWA, H. e OGURI, M. Sex differentiation in a cichlid, *tilapia-zillii*. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 44, n. 4, p. 313-318, 1978 1978. ISSN 0021-5392. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1978EW50800003 >.

ZANONI, M. A.; LEAL, T. V.; CAETANO FILHO, M.; 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, Londrina**, v. 34, n. 1, p. 455-466, 2013.

