

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E
DESENVOLVIMENTO GONADAL DE JUVENIS
DE ROBALO-FLECHA *Centropomus
undecimalis* ALIMENTADOS COM 17 β -
ESTRADIOL E 17 α -METILTESTOSTERONA**

Jade Marcel Alves Aprigio

Jaboticabal, São Paulo
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E DESENVOLVIMENTO
GONADAL DE JUVENIS DE ROBALO-FLECHA
Centropomus undecimalis ALIMENTADOS COM 17 β -
ESTRADIOL E 17 α -METILTESTOSTERONA**

Jade Marcel Alves Aprigio

Orientador: Dr. Eduardo Antônio Sanches

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

Jaboticabal, São Paulo
2019

A654d Aprigio, Jade Marcel Alves
Desempenho zootécnico e desenvolvimento gonadal de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis* alimentados com 17 β -estradiol e 17 α -metiltestosterona / Jade Marcel Alves Aprigio. -- Jaboticabal, 2019
v, 31 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2019

Orientador: Eduardo Antônio Sanches

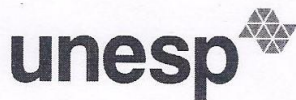
Banca examinadora: Carlos Augusto Prata Gaona, Gabriel Passini

Bibliografia

1. Feminização. 2. Masculinização. 3. Administração hormonal. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.03

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


Título: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E DESENVOLVIMENTO GONADAL DE JUVENIS DE ROBALO-FLECHA, *Centropomus undecimalis*, ALIMENTADOS COM 17-ESTRADIOL E 17- METILTESTOSTERONA

AUTOR: JADE MARCEL ALVES APRIGIO

ORIENTADOR: EDUARDO ANTÔNIO SANCHES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES
Engenharia de Pesca / UNESP, Registro-SP


Prof. Dr. CARLOS AUGUSTO PRATA GAONA
Campus Experimental de Registro / UNESP

Dr. GABRIEL PASSINI
/ Autônomo



Jaboticabal, 01 de julho de 2019.

Sumário

Dedicatória.....	1
Agradecimentos	2
Apoio Financeiro	3
Resumo.....	4
Abstract.....	5
1. Introdução.....	6
1.1 Objetivo Geral	10
1.1.1. Objetivos Específicos	10
1.2 Formatação das Citações e Referências	10
2. Material e Métodos	11
2.1 Organismo de Estudo	11
2.2 Delineamento Experimental	11
2.3 Procedimentos Específicos.....	13
2.4 Análise de Dados.....	14
3. Resultados.....	15
4. Discussão	20
5. Conclusão.....	24
6. Referências	25

Dedicatória

Ao meu irmão/amigo, Paulo Augusto Junior. Eterno Paulinho da UEMS.

Agradecimentos

A energia criadora de todos os seres, Nzambi a Mpungu, pela Vida.

A minha Mama Maria Elza, por me dar a Luz.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Antônio Sanches, por todos os ensinamentos, parceria, paciência e compreensão. Sem ele nada seria possível.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao LANAM, em nome de Sebastião Andriello Neto, Mariana Molica, Keila Araujo, Arthur Artemtchouque e todos que contribuíram para a realização deste experimento.

A UNESP/Registro - SP, em nome do Prof. Dr. Eduardo Antônio Sanches, por proporcionar condições para a execução desse projeto.

Ao Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu-SP, em nome do Prof. Dr. Rafael Henrique Nóbrega e Juliana Ricci, pela parceria no projeto e todo conhecimento transmitido.

A todos os funcionários e professores do CAUNESP/Jaboticabal - SP, pelos auxílios prestados e conhecimentos transmitidos.

Aos Professores Drs. Érico Rodrigues e Felipe A. M. Daros pelas sugestões na banca de qualificação.

Ao Professor Dr. Carlos A. P. Gaona e Dr. Gabriel Passini pelas sugestões na banca de defesa.

A Jéssica Julian, por ser minha companheira e o meu maior apoio.

A Maitê Jahzara, por existir e renovar a minha força e vontade de vencer.

A minha irmã Aurélia Lé e toda minha família, por acreditarem que eu seria capaz.

Ao Daniel Deley e todos moradores, ex-moradores e agregados da república Madalena, pela amizade e moradia.

A todos que não foram citados em nome, mas contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho.

A todos, os meus sinceros agradecimentos! Eu não conseguiria sozinho.

Apoio Financeiro

CNPq, Bolsa de Mestrado.

Resumo

O Brasil apresenta um grande potencial para produção de peixes em ambientes marinhos/estuarinos, entretanto, isso ainda não é realidade por vários fatores, dentre eles a tecnologia de produção ainda limitada de algumas espécies nativas promissoras, como é o caso do robalo-flecha *Centropomus undecimalis*. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho zootécnico e desenvolvimento gonadal de juvenis de *C. undecimalis* após alimentação com ração (45% PB) contendo 17β -estradiol (E_2) e 17α -metiltestosterona (MT). Para tanto, 450 peixes (um ano de idade) foram submetidos a um delineamento experimental inteiramente casualizado contendo três tratamentos em triplicata. Os tratamentos foram: 1ª) ração sem adição de hormônio (grupo controle); 2ª) ração com 100 mg de E_2 por kg; 3ª) ração com 60 mg de MT por kg, fornecidas durante 55 dias. Após o término da alimentação com hormônio os peixes foram alimentados com a mesma ração, sem adição de hormônio, durante 313 dias, totalizando 368 dias. Não se verificou efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre os parâmetros zootécnicos avaliados. Não foram encontradas estruturas morfológicas da completa diferenciação sexual ou não se observou células específicas de ovários ou testículos ao final dos 368 dias. Conclui-se que as alimentações contendo 17β -estradiol e 17α -metiltestosterona não influenciaram o desempenho zootécnico de juvenis de *C. undecimalis* após um ano de alimentação.

Palavras-Chave: feminização, masculinização, administração hormonal, piscicultura marinha.

Abstract

The Brazil has great potential for fish production in marine/estuarine environments, however, this is not yet reality due to several factors, including the still limited production technology of some promising native species, such as the common snook, *Centropomus undecimalis*. Thus, the objective of this study was to evaluate the zootechnical performance and gonadal development of juveniles of *C. undecimalis* after feeding with feed (45% CP) containing 17 β -estradiol (E2) and 17 α -methyltestosterone (MT). To that end, 450 fish (one year old) were submitted to a completely randomized experimental design containing three treatments in triplicate. The treatments were: 1st) ration without addition of hormone (control group); 2nd) ration with 100 mg of E2 per kg; 3rd) ration with 60 mg MT per kg, provided for 55 days. After the end of the feeding with hormone the fish were fed the same feed, without addition of hormone, during 313 days, totaling 368 days. There was no effect ($P>0.05$) of the treatments on the zootechnical parameters evaluated. No morphological structures were found of complete sexual differentiation or no specific ovary or testis cells were observed at the end of 368 days. It was concluded that feeds containing 17 β -estradiol and 17 α -methyltestosterone did not influence the performance of juveniles of *C. undecimalis* after one year of feeding.

KEY-WORDS: feminization, masculinization, hormonal administration, marine fish farming.

1. Introdução

O robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) (Figura 1) é um peixe da classe Osteichthyes, sub-classe Actinopterygii, ordem Perciformes, sub-ordem Percoidei, família Centropomidae, gênero *Centropomus*, espécie *Centropomus undecimalis* (Greenwood, 1976).



Figura 1. Exemplar de Robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792).
Autor: Jade M. A. Aprigio.

O robalo-flecha ou camurim, como é conhecido no nordeste brasileiro, é um peixe-marinho que encontram seu conforto térmico em temperaturas entre 25 e 30° e se distribui naturalmente em regiões marinhas, estuarinas, lagunares e áreas costeiras tropicais e subtropicais no Atlântico ocidental, desde o sul do Brasil ao sudeste dos Estados Unidos (Figueiredo & Menezes, 1980; Rivas, 1986). Naturalmente as espécies do gênero *Centropomus* são consideradas eurihalinas, diádromas e carnívoras oportunistas que se alimentam de crustáceos, peixes e outras presas ocasionais (Rivas, 1986). O *C. undecimalis* é uma espécie hermafrodita protândrica que atinge até 1,2 m de comprimento total e 25 de peso corporal, apresentando como características evidentes uma linha lateral bem visível, corpo com reflexos esverdeados e ventre esbranquiçado (Taylor, Whittington, Grier & Crabtree, 2000). Os hermafroditas protândricos são peixes que atingem a primeira maturação gonadal diferenciados como machos e a partir

de um determinado tamanho invertem de sexo para fêmeas (Frisch, 2004). Segundo Gassman, Rojas e Padrón (2017) no robalo-flecha a transição de macho para fêmea acontece quando os peixes apresentam, em média, comprimento total de 47 a 68 cm, confirmando os valores médios de 51, 5 cm (3,4 anos de idade) obtidos por Taylor et al.(2000).

O robalo-flecha está incluso entre as espécies que possuem potencial para a piscicultura marinha e estuarina no Brasil (Cerqueira, 2004; Cavalli & Hamilton, 2007; Cerqueira & Tsuzuki, 2009; Cavalli, Domingues & Hamilton, 2011). É considerado um peixe nobre e de alto valor comercial (Liebl et al., 2016), sua carne possui propriedades organolépticas que atrai o mercado consumidor (Ferraz & Cerqueira, 2010). O robalo-flecha é uma espécie de grande rusticidade, bastante tolerante as variações de salinidade (Farias et al., 2017), as baixas concentrações de oxigênio dissolvido (Cerqueira & Tsuzuki, 2009), as altas concentrações de nitrato (Pedrotti, Magnotti, Sterzelecki & Cerqueira, 2018a), as altas concentrações de amônia (Pedrotti et al, 2018b) e condições extremas de pH e condutividade (Pereira et al., 2015). Possui boas taxas de crescimento, os estudos relatam resultados promissores em sistemas de recirculação (Herrera, Kuhnen & Sanches, 2019a), em tanques redes e em tanques escavados (Cavalli & Hamilton, 2007), podendo ser criado tanto em água salgada (Farias et al., 2017), como em água doce (Michelotti et al., 2018). As variações de temperatura ao longo do ano não impedem a estocagem de juvenis de robalos-flechas durante o inverno, porém as baixas temperaturas interferem consideravelmente no crescimento dos juvenis (Liebl et al., 2016).

Sabe-se que o robalo-flecha possui capacidade de maturar sexualmente em cativeiro (estuarino e marinho) e não ser afetado ou ser afetado temporariamente pelas condições ambientais. A maioria dos aspectos relacionados à reprodução, como, desenvolvimento gonadal, qualidade e quantidade espermática, ativação de espermatozoides, e níveis de cálcio e estradiol, segue o mesmo padrão específico do ciclo reprodutivo descrito histologicamente em robalos-flecha selvagens por Posada-Peláez et al. (2012) (Cruz, Roca, Gaitán, Chaparro & Villamizar, 2018). Há pouco tempo a primeira maturação e desova em cativeiro de robalo-flecha obtiveram sucesso no Brasil (Passini et al., 2013). Em uma publicação recente, Cerqueira et al. (2017) destaca

os aspectos do controle da reprodução do robalo-flecha, incluindo o manejo de reprodutores, a indução hormonal de desova e o cuidado com ovos e larvas. Entretanto, não há registros sobre a criação comercial de robalo-flecha no Brasil, apenas produções experimentais (MPA, 2013; Cerqueira et al., 2017). Apesar disso, já se encontram no mercado, as tecnologias que possibilitam a produção em escala comercial de diversos peixes marinhos nativos (Cerqueira et al., 2017). Farias et al. (2017), sugerem a criação desta espécie como alternativa para os mais de 25.000 ha de viveiros utilizados unicamente na criação do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei*. Esta alternativa também se mostra ecologicamente e socioeconomicamente viável para reduzir os esforços sobre os estoques naturais e promover a geração de renda e a melhoria da qualidade de vida dos pescadores e piscicultores (Barroso et al., 2007).

O controle do sexo dos peixes é uma das táticas mais prósperas na aquicultura e tem como principal foco usufruir de vantagens relacionadas a um dos sexos que possa incrementar a produtividade (Beardmore, Mair & Lewis, 2001; Frisch, 2004). O entendimento deste processo pode amparar melhorias no desempenho zootécnico e conseqüentemente nos índices econômicos. Os hormônios esteroides são produzidos nas gônadas e influem no eixo hipotálamo-hipófise-gônada, onde se relacionam verticalmente com os processos naturais de diferenciação sexual, maturação gonadal e mudança de sexo nos peixes. Os principais hormônios são 11-cetotestosterona (11KT) e Testosterona (T), para machos, e estradiol, para fêmeas (Piferrer, 2001; Frisch, 2004; Guiguen, Fostier, Pieferrer & Chang, 2010). Os hormônios andrógenos (11KT e T) são produzidos nas células de Leydig e atuam nos estágios iniciais da espermatogênese, desenvolvimento e amadurecimento dos testículos (Schulz et al., 2010) e o estrógeno (estradiol) é naturalmente produzido no ovócito e age na diferenciação sexual e mudança de sexo, estimulando o desenvolvimento do tecido ovariano (Nakamura, Bhandari & Higa, 2003). Para manipulação do sexo, esteroides sexuais exógenos vêm sendo utilizados em diversas espécies de peixes, como por exemplo: robalo asiático *Lates calcarifer* (Anderson & Forrester, 2001), robalo europeu *Dicentrarchus labrax* (Gorshkovet al., 2004), garoupa verdadeira *Epinephelus marginatus* (Cabrita, Engrola, Conceição, Pousão-Ferreira & Dinis, 2009), robalo-peva *Centropomus parallelus* (Carvalho, Passini, Melo & Cerqueira,

2014a) e robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Passini, Carvalho, Sterzelecki, Baloi & Cerqueira, 2019). Diversos estudos foram desenvolvidos envolvendo o robalo-flecha e utilizando hormônios esteróides exógenos: ensaios sobre feminização de juvenis (Vidal-López et al., 2012; Carvalho, Passini, Costa, Vieira & Cerqueira, 2014b), inversão sexual de machos adultos (Passini et al., 2016), manejo de reprodutores e controle da reprodução (Cerqueira et al., 2017), aceleração da espermatogênese durante a primeira maturação sexual (Passini et al., 2018).

Os métodos mais comuns de administração de hormônios esteróides são através da alimentação e de banhos de imersão (Pandian & Sheela, 1995). O melhor método depende do período lábil específico de cada espécie. O período lábil é a fase indiferenciada no desenvolvimento das gônadas, em outras palavras é o período em que as gônadas estão mais sensíveis à ação de esteróides exógenos. Durante este período as gônadas estão iniciando o seu desenvolvimento e as células germinativas primordiais (CGP) presentes possuem a capacidade de se desenvolver em ovôgonias ou espermatogônias, dependendo do hormônio que está influenciando a diferenciação (Park et al., 2004; Carvalho et al., 2014). Para espécies que o período lábil coincide com a embriogênese ou acontece durante o estágio larval, banhos de imersão (o hormônio diluído em água) é mais adequado, ao passo que em espécies onde o período lábil acontece ao mesmo tempo em que a alimentação exógena, é mais apropriada a adição do hormônio em rações ou no alimento vivo (náuplios de *Artemia spp.*) como veículo (Beardmore, Mair & Lewis, 2001; Piferrer, 2001; Vidal-López et al., 2009).

Administrados em baixas doses e por curtos períodos de tempo, no período lábil da espécie, o estrógeno 17 β -estradiol é utilizado como hormônio feminizante, enquanto que andrógenos, como o 17 α -metiltestosterona é utilizado como masculinizante (Chang, Lau & Lin, 1995; Condeca & Canário, 1999). Os hormônios esteróides são metabolizados no fígado e são liberados após alguns dias, independente da via de administração. Os animais tratados com hormônios chegam ao mercado consumidor meses ou anos depois, minimizando qualquer possibilidade de haver quantidades significativas dos hormônios ou seus metabólitos na carne (Piferrer, 2001). Com a utilização do hormônio apropriado, em dosagem adequada, durante a fase indiferenciada do desenvolvimento das

gônadas, é possível influenciar na diferenciação sexual para o fenótipo pretendido (Zohar & Mylonas, 2001).

Apesar de diversos trabalhos acerca da reprodução do robalo-flecha, pouco são as informações disponíveis sobre determinação e diferenciação sexual e vantagens entre os sexos. Desta maneira faz-se necessário maior conhecimento sobre o efeito dos hormônios esteroides e sua administração para juvenis de *C. undecimalis*.

1.1. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho zootécnico e o desenvolvimento gonadal de juvenis de robalo-flecha *C. undecimalis* após alimentação com ração adicionada de 17β -estradiol e 17α -metiltestosterona.

1.1.1. Objetivos Específicos

Avaliar a influência do hormônio 17β -estradiol no desenvolvimento gonadal e feminização do robalo-flecha;

Avaliar o efeito do hormônio 17β -estradiol no crescimento, sobrevivência e consumo aparente de ração pelos juvenis;

Avaliar a influência hormônio 17α -metiltestosterona no desenvolvimento gonadal e masculinização do robalo-flecha;

Avaliar o efeito do hormônio 17α -metiltestosterona no crescimento, sobrevivência e consumo aparente de ração pelos juvenis;

1.2. Formatação das Citações e Referências

As citações e referências bibliográficas estão formatadas de acordo com as normas da revista *Aquaculture Research*.

2. Material e Métodos

2.1. Organismo de Estudo

Foram utilizados 450 juvenis de robalo-flecha, *C. undecimalis* com peso de $9,64 \pm 0,10$ g provenientes de desovas induzidas de fevereiro de 2016 do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC/BR.

O experimento foi realizado no Complexo Laboratorial de Produção de Formas Jovens de Organismos Aquáticos (figura 2), localizado em Ilha Comprida, SP/BR.



Figura 2. Vista lateral dos tanques utilizados no experimento.

2.2. Delineamento Experimental

O delineamento experimental (figura 3) foi inteiramente casualizado, sendo composto por três tratamentos: 1^a) ração sem hormônio (grupo controle); 2^a) ração com 100 mg de 17β -estradiol/kg (E_2) e 3^a) ração com 60 mg de 17α -metiltestosterona/kg (MT), fornecidas durante 55 dias no período de março a maio de 2017. Cada dieta foi considerada um tratamento com três repetições. Conforme o fluxograma a seguir:

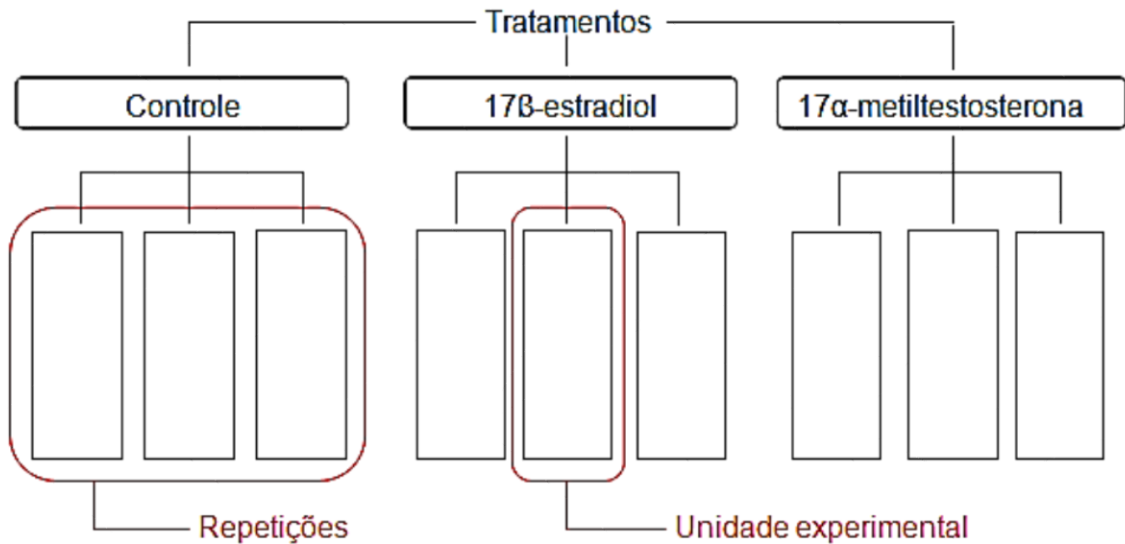


Figura 3. Distribuição dos das unidades experimentais empregadas.

Os 450 peixes foram distribuídos em nove tanques de concreto de 11,2m³ (1,2mx7,8mx1,2m) em sistema aberto com água marinha (renovação semanal de 70% do volume total) e aeração constante.

Os juvenis foram alimentados três vezes ao dia até a saciedade aparente com ração comercial extrusada para peixes carnívoros (45% de proteína bruta, 2,3 mm, Flash Fish Poli Nutri®).

As rações com 17β-estradiol e 17α-metiltestosterona foram confeccionadas uma semana antes do início do experimento. Para a incorporação na ração, o hormônio foi previamente diluído em 250 ml de álcool etílico P.A. e pulverizado homoganeamente em um quilograma (01 kg) de ração. A ração do tratamento controle recebeu apenas o veículo (álcool etílico P.A.). Para evaporação do álcool, a ração foi distribuída em bandejas, ao abrigo da luz, por 48h. Após secagem foram conservadas em freezer a - 4°C (Metodologia adaptada de Carvalho et al., 2014b).

Após o término da alimentação com hormônio (55 dias) os peixes foram alimentados com a mesma ração comercial sem adição de hormônio no mesmo regime alimentar durante 313 dias, totalizando 368 dias.

2.3. Procedimentos Específicos

Os parâmetros físico-químicos da água, tais como, temperatura (°C), pH e oxigênio dissolvido da água (mg/L^{-1}) foram medidos diariamente, e a salinidade (g/L^{-1}), amônia total (mg/L^{-1}), turbidez (NTU) e condutividade (mS/cm^{-1}) foram avaliadas semanalmente. A temperatura foi avaliada através de termômetro digital, o pH através do pHmetro microprocessado (Alfakit AT-315) e o oxigênio dissolvido da água com o auxílio do oxímetro (Alfakit AT-150). A salinidade foi mensurada através de refratômetro analógico (BEL equipamentos), a amônia total foi obtida através de teste colorimétrico (Labcon Test) e a turbidez e condutividade foram avaliadas através da Sonda Multiparâmetro (YSI PRÓ PLUS).

Para a avaliação do desempenho zootécnico foram utilizadas as seguintes fórmulas:

- Fator de condição Fulton (FC) = $100 \times (\text{peso} / (\text{comprimento total}^3))$;
- Taxa de crescimento específico (TCE, $\% \text{ dia}^{-1}$) = $100 \times [(\ln Pf - \ln Pi) / \text{tempo}]$, onde Pf = peso final (g) e Pi = peso inicial (g);
- Ganho em Peso (GP) = $(Pf - Pi)$;
- Consumo de ração aparente (CR, g peixe^{-1}) = consumo aparente/número de peixes por tanque;
- Consumo de hormônio na ração = CR x (dosagem do hormônio);
- Conversão alimentar aparente (CAA) = ração total consumida (g)/ganho peso vivo total (g);
- Sobrevivência (S%) = $100 \times (Ni - Nm) / Ni$, onde Ni é o número inicial de juvenis e Nm é o número de juvenis mortos.

As biometrias foram realizadas periodicamente (nos dias 1, 70, 124, 170, 196, 229, 314, 368 do experimento) para acompanhar o crescimento dos animais, em todas as coletas eles foram mensurados e pesados. Durante as biometrias os peixes foram anestesiados com solução de benzocaina (40 mg/L^{-1}).

No término do experimento, para avaliar o desenvolvimento gonadal, 8% dos peixes de cada tanque ($n=4$) foram sacrificados aleatoriamente e dissecados para a amostragem das gônadas. Os peixes sacrificados para amostragem gonadal foram submetidos à alta dosagem de benzocaina (200 mg L^{-1}).

As gônadas foram fixadas em solução de Karnovsky – solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% em tampão Sorensen (0,1M a pH 7,2) por pelo menos 24 horas. Após fixação, o material foi desidratado em uma série crescente de álcool (70% por 4 horas; 80 % por 10 min.; 90 % por 10 min.; 95 % por 4 horas; 100% por 10 min.), infiltrados e incluídos em historesina Leica (metacrilato glicol). Cortes histológicos seriados longitudinais e transversais das gônadas, com 3 µm de espessura, foram cortados em micrótomo equipado com navalhas de vidro e receberam as seguintes colorações: Hematoxilina Férrica/Eosina; Azul de Toluidina-Bórax; e PAS (Ácido Periódico em Reativo de Schiff) para análises histológicas. A documentação do material foi realizada por meio de um microscópio Leica DMI 4000B acoplado a uma câmera Leica DFC 450 e um computador com o programa Leica Application Suite, pertencente ao Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu-SP. Todos os procedimentos para o processamento do material para microscopia de luz foram realizados no Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu-SP.

O desenvolvimento gonadal foi avaliado a partir das estruturas presentes nas gônadas dos peixes amostrados, tendo como base os estudos de Vazzoler (1996), Grier e Taylor (1998) e a padronização proposta por Brown-Peterson et al. (2011), apud Passini et al. (2019).

2.4. Análise de Dados

Ao final do período experimental, os dados dos parâmetros produtivos obtidos foram submetidos à análise de variância de um fator (*One-way ANOVA*) ao nível 5% de significância e em caso de efeito significativo foi aplicada a análise de comparação de médias de Tukey ao mesmo nível de significância. Os pressupostos de homogeneidade dos resíduos (Teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (Teste de Levene) foram checados ao nível de 5% de significância.

Além disso, para cada biometria, os dados de ganho de peso parcial (referente ao peso da biometria anterior), peso médio e comprimento médio foram submetidos à mesma análise de variância descrita anteriormente.

3. Resultados

Durante o experimento, a média de temperatura da água foi de $24,30 \pm 2,86$ °C. O pH e o oxigênio dissolvido da água foram $7,72 \pm 0,41$ e $5,56 \pm 1,20$ mg L⁻¹, respectivamente. A salinidade da água dos tanques foi de 30 ± 2 g L⁻¹, a amônia total $0,00$ mg L⁻¹, a turbidez $0,00$ NTU e a condutividade $63,65 \pm 16,24$ mS cm⁻¹.

A variação da temperatura da água dos tanques está expressa na Figura 4. Os meses que correspondem às estações de outono (abril, maio e junho), inverno (julho, agosto e setembro), primavera (outubro, novembro e dezembro) e verão (janeiro, fevereiro e março) apresentaram as seguintes médias de temperaturas: $23,0$ °C; $21,3$ °C; $24,9$ °C e $28,0$ °C, respectivamente.

Não se verificou influencia significativa dos tratamentos testados sobre o peso individual médio (g) dos robalos-flecha ao longo dos meses de criação (Figura 5).

Os tratamentos testados, ração com 100 mg de E₂ e ração com 60 mg de MT não influenciaram significativamente ($P > 0,05$) os parâmetros produtivos avaliados (Tabela 1) quando comparados com o grupo controle.

O ganho de peso médio (g) não apresentou diferença significativa para os diferentes tratamentos em cada biometria realizada. Na Figura 6 estão dispostos o ganho de peso médio (g) dos peixes e a variação da temperatura da água, em virtude das estações do ano.

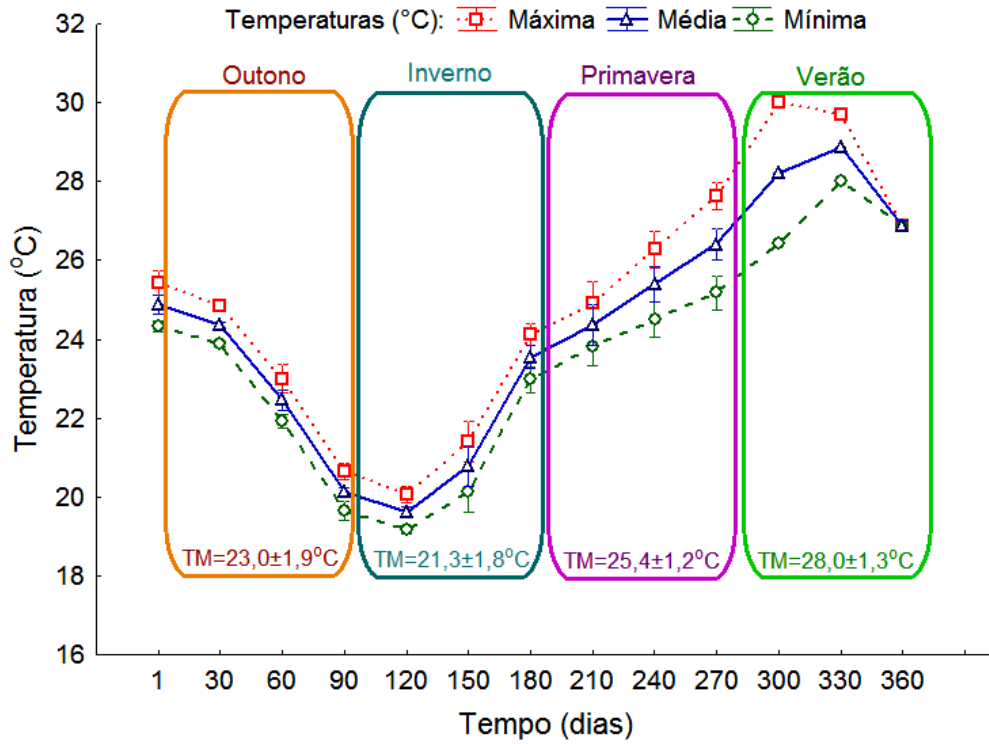


Figura 4. Variação da temperatura da água de cultivo dos robalos-flecha *C. undecimalis* durante 368 dias.

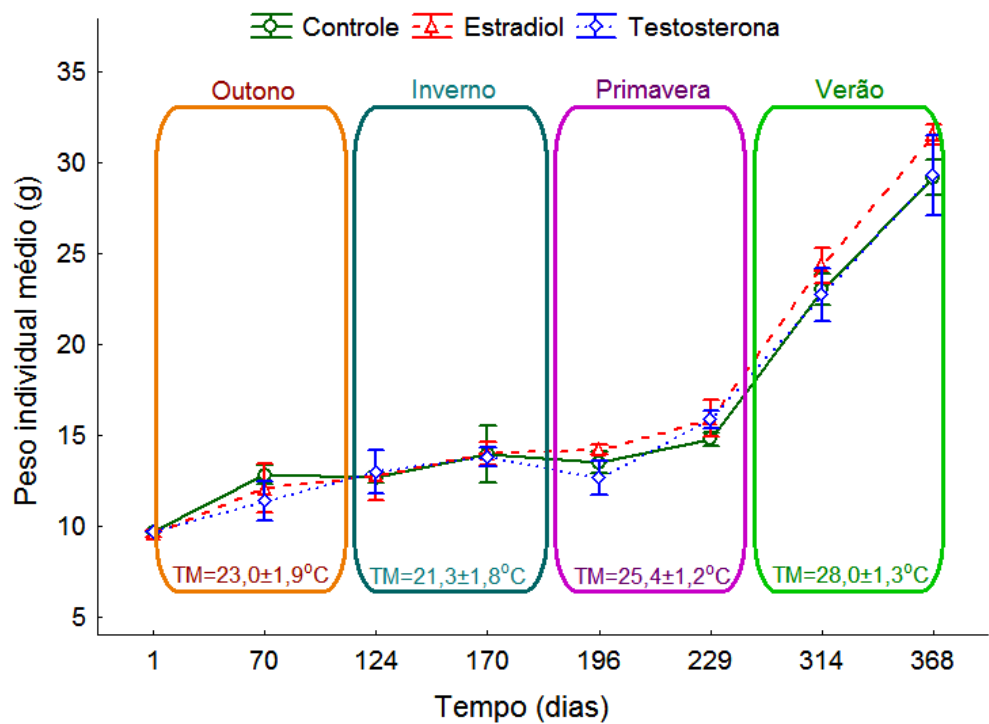


Figura 5. Valores médios de peso individual (g) dos robalos-flecha *C. undecimalis* durante 368 dias.

Tabela 1. Parâmetros de desempenho zootécnico do robalo-flecha *C. undecimalis* ao final de 368 dias, após serem alimentados com hormônios (E₂ e MT), durante 55 dias no início do experimento.

Tratamentos	Controle	Estradiol	Testosterona	p-valor
Peso inicial (g)	9,68 ± 0,01	9,57 ± 0,18	9,66 ± 0,01	0,4518
Peso final (g)	29,17 ± 1,01	31,54 ± 0,58	29,30 ± 2,29	0,1710
Comprimento padrão final (cm)	13,09 ± 0,17	13,42 ± 0,13	13,06 ± 0,24	0,0927
Comprimento total final (cm)	16,11 ± 0,24	16,53 ± 0,04	16,24 ± 0,44	0,2665
GP (g)	19,49 ± 1,01	21,96 ± 0,69	19,64 ± 2,28	0,1557
CR (g peixe ⁻¹)	42,91 ± 1,66	46,41 ± 2,07	43,92 ± 1,26	0,1039
TCE (%)	0,30 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,30 ± 0,0	0,1352
CAA	2,21 ± 0,12	2,11 ± 0,12	2,26 ± 0,25	0,6509
FC (%)	0,70 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,68 ± 0,004	0,2575
Sobrevivência (%)	96 ± 2,00	92,66 ± 5,77	97,33 ± 2,31	0,3596

Média ± desvio padrão. GP = ganho de peso, CR = consumo de ração, TCE = taxa de crescimento específico, CAA = conversão alimentar aparente, FC = fator de condição Fulton.

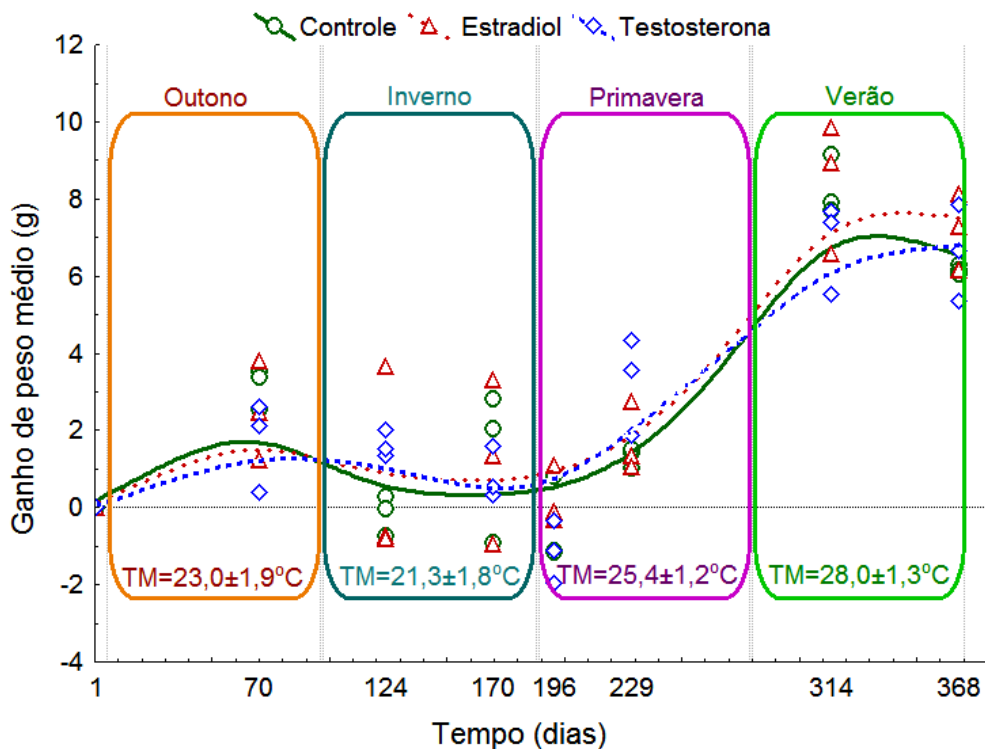


Figura 6. Variação da temperatura e do ganho de peso médio (g) dos robalos-flecha (*C. undecimalis*) durante 368 dias.

Ao término deste experimento, as gônadas dos peixes, em ambos os tratamentos, foram consideradas indiferenciadas. Os cortes histológicos revelaram que os peixes do tratamento controle apresentavam somente células germinativas primordiais (CGPs), dispostas entre as células somáticas, predominantemente na região periférica da gônada (Figura 7a, b). Os animais que foram alimentados com E₂, também apresentavam tecido gonadal em processo de diferenciação, porém as células germinativas primordiais se concentraram na região central do tecido, em maior quantidade, quando comparados ao tratamento controle (Figura 7c, d). Os peixes que receberam MT apresentaram características parecidas de distribuição das células germinativas e células somáticas com o tratamento alimentado com E₂, entretanto, as CGPs apresentavam-se em maior quantidade neste grupo, quando comparado com os outros tratamentos (Figura 7e, f).

No período experimentado não houve qualquer diferença celular que indicasse um tecido gonadal supostamente feminino ou masculino. Após a análise histológica não foram encontradas estruturas da completa diferenciação sexual, assim, não foi possível determinar a proporção sexual de machos e fêmeas em cada tratamento.

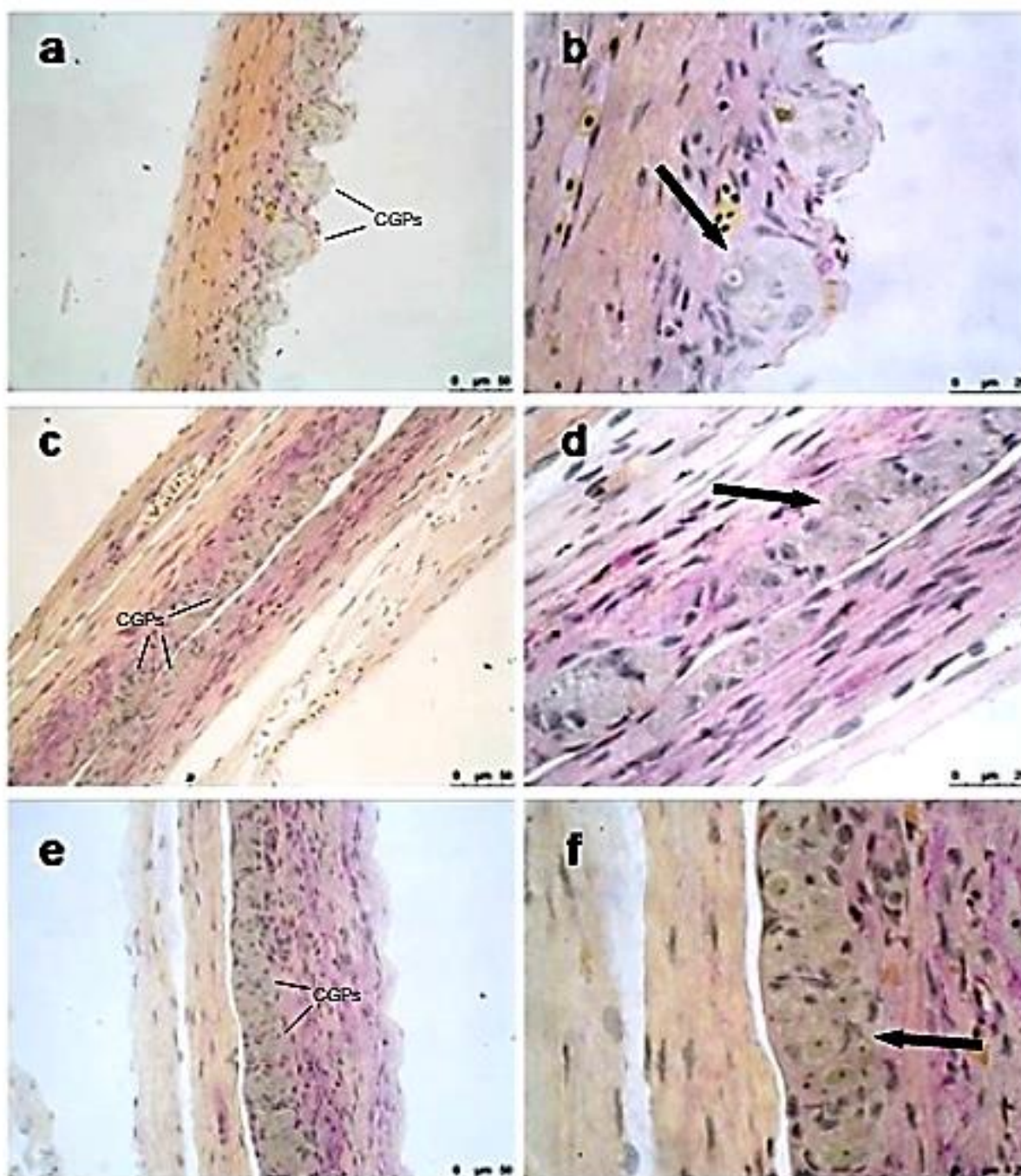


Figura 7. Corte longitudinal das gônadas dos robalos-flecha *C. undecimalis* ao final de 368 dias, após serem alimentados com hormônios (E_2 e MT) por 55 dias no início do experimento. (a) e (b) grupo controle, (c) e (d) tratamento com E_2 e (e) e (f) tratamento com MT. CGPs: células germinativas primordiais (setas). (a), (c) e (e) aumento de 40x, (b), (d) e (f) aumento de 100x.

3. Discussão

Os dados médios dos parâmetros físico-químicos da água monitorados mostraram-se adequados para a manutenção dos robalos-flecha, de acordo com Alvarez-Lajonchère & Tsuzuki (2008). A temperatura da água esteve dentro os níveis aceitáveis para o cultivo da espécie e expressou comportamento típico de clima subtropical, com decréscimo nos meses de inverno e incremento gradual subsequente, entretanto, certamente as baixas temperaturas limitaram o crescimento dos juvenis testados. Cerqueira (2002) verificou diminuição no crescimento e na ingestão de alimento por robalo, em função das baixas temperaturas do inverno de Santa Catarina.

Verificou-se que o ganho de peso médio (g) dos peixes foi dependente da temperatura da água em virtude das estações do ano, entretanto, sem diferença significativa para os diferentes tratamentos em cada biometria realizada. Esta variável, ao longo do cultivo, inicialmente foi levemente acentuada (outono); posteriormente, nos meses onde as taxas de temperatura foram mais baixas (inverno), ocorreu redução; nos meses referentes à primavera, voltou a aumentar, e em seguida, com a elevação da temperatura, continuou a aumentar nos demais meses (verão). Ao avaliar o efeito das diferentes temperaturas e salinidades sobre o crescimento de juvenis robalos-flecha, Costa-filho et al. (2017) demonstraram que as diferentes temperaturas da água podem ocasionar mudanças físicas e químicas nas células e no metabolismo, afetando as taxas crescimento e o comportamento alimentar dos peixes. O mesmo ensaio mostrou que a salinidade também afeta o crescimento, onde a salinidade de 15g L⁻¹ estimulou maior desempenho de crescimento e utilização de nutrientes nos juvenis de robalo-flecha, corroborando com o estudo de Tsuzuki, Sugai, Maciel, Francisco & Cerqueira (2007) que comparou o efeito de 5, 15 e 35 g L⁻¹ de salinidade em juvenis de robalo-peva. Neste presente trabalho, a salinidade média da água dos tanques de cultivo foi de 30 ± 2 g L⁻¹, mais um possível inconveniente para o crescimento dos animais.

Em estudo em água doce, Liebl et al. (2016), relataram a influência das baixas temperaturas nas estações de outono e primavera sobre as taxas de crescimento específico dos robalos-flecha e robalos-peva. A temperatura média permaneceu em níveis aceitáveis para o cultivo, mas não ideais para atingir

crescimento satisfatório, como também foi observado no presente estudo. Os autores apontam como solução para este problema, a manutenção dos robalos na fase pré-engorda sob condições controladas de temperatura. Passini et al. (2019) também destacam as condições de criação como um dos aspectos que possibilita o início da puberdade mais cedo em robalos-flecha. A manutenção da temperatura mais alta no sistema de cultivo (30 °C) promove o crescimento e conseqüentemente a primeira maturação dos peixes.

Oliveira et al. (2016), Herrera et al. (2019a) e Herrera, Santos, Sousa, Kuhnen & Sanches (2019b) demonstraram que a freqüência alimentar também influencia os parâmetros de desempenho zootécnico em robalos-flecha. Herrera et al., (2019a) ao testarem as freqüências alimentares 6, 12 e 18 alimentações ao dia, a freqüência de alimentação de 12 vezes por dia apresentou efeito significativo positivo no peso final, fator de condição, taxa de crescimento específico, ganho de peso diário e conversão alimentar aparente dos peixes. Nesse presente estudo, onde a freqüência de alimentação foi baixa (3 vezes ao dia) obtivemos taxas de CAA maiores (2,1 a 2,3) em comparação ao estudo citado anteriormente, que registrou CAA variando de 1,2 a 1,6. Em regiões onde as temperaturas da água atingem menos de 26 °C ao longo do ano, o aumento da freqüência alimentar nos períodos em que a temperatura está naturalmente alta (verão) pode ser uma alternativa para maximizar o desempenho zootécnico em sistemas que não possuem controle da temperatura da água.

O uso de agentes hormonais (E₂ e MT) não influenciou na sobrevivência dos juvenis de robalo-flecha, o que confirma outros experimentos já realizados. No trabalho de Carvalho et al. (2014b), a suplementação de E₂ para robalos-flecha também não influenciou na sobrevivência, mas diminuiu o consumo de ração durante a alimentação com hormônios e o crescimento dos juvenis tratados quando comparados com o grupo controle.

Vidal-lopez et al. (2012) ao testar o efeito do E₂ (50 mg kg⁻¹) administrado durante 7, 14, 21, 28, 35 ou 42 dias para juvenis de robalo-flecha, *C. undecimalis* (46mm), obtiveram de 13 a 93 % de fêmeas nos juvenis tratados com hormônio durante diferentes intervalos de tempo. Carvalho et al. (2014b) durante experimento de feminização de robalo-flecha conseguiram 90% de fêmeas utilizando 100 mg kg⁻¹ E₂ na ração durante 45 dias em peixes com comprimento

inicial de 12 cm. Já no tratamento com $50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ E}_2$ foi possível obter somente 68,42% de fêmeas e ainda foram encontrados indivíduos intersexo. Os autores evidenciam que são necessários mais estudos para se obter um protocolo com 100 % de feminização. No presente trabalho não se observou a feminização dos animais alimentados com $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ E}_2$, porém notou-se modificação na morfologia das gônadas. Possivelmente, a divergência de resultados com os dois estudos citados anteriormente, podem ser devido ao estágio de desenvolvimento gonadal que os animais testados se encontravam. De acordo com Piferrer (2001), para o sucesso no controle sexual de juvenis, os fatores fundamentais são: a concentração ideal de hormônio, o tratamento hormonal utilizado e o estágio de desenvolvimento gonadal dos animais.

Esperava-se que a administração do hormônio MT pudesse acelerar o desenvolvimento ou até mesmo potencializar a masculinização dos juvenis de robalo-flecha. Entretanto, apenas foi possível observar modificação na quantidade e distribuição das células germinativas primordiais no tecido gonadal. Não foi verificada a masculinização dos peixes suplementados com MT. Recentemente, ao utilizar implantes de MT em machos de robalos-flecha em primeira maturação, com peso de 305,8 g e comprimento total de 34,1 cm, Passini et al. (2018) demonstraram que o andrógeno, nas concentrações 15 e 30 mg kg^{-1} , promoveu o crescimento das gônadas e estimulou a espermatogênese nos peixes já diferenciados.

Nos animais que foram alimentados com hormônios, visivelmente, as gônadas eram mais espessas, quando comparadas com o grupo controle, supostamente pela maior quantidade de células germinativas primordiais e células somáticas presentes.

Passini et al. (2019) evidenciou que a primeira maturação do robalo-flecha está mais relacionada com o tamanho (peso e comprimento) do que com a idade, o início da puberdade, provavelmente, está associado ao crescimento somático dos peixes e à maturação do sistema reprodutor. Os autores relataram robalos-flecha com peso de $76,55 \pm 10,61 \text{ g}$ e comprimento total de $21,36 \pm 0,68 \text{ cm}$ com gônadas indicando diferenciação testicular e presença de espermatogônias, confirmando os resultados de Taylor et al. (2000), que comprovaram que juvenis

de robalo-flecha iniciam o desenvolvimento dos testículos (maturação sexual) no primeiro ano de vida, a partir de 15 a 20 cm de comprimento padrão.

Já Gassman et al. (2017) após estudarem os aspectos reprodutivos do robalo-flecha, determinaram que o comprimento médio de machos em maturação sexual em ambiente natural é de 59,3 cm, enquanto que para fêmeas é de 73,6 cm. Em nosso estudo, os peixes apresentaram, no geral, peso final médio de $30,0 \pm 1,72$ g e comprimento total final médio de $16,3 \pm 0,31$ cm, indicando a possibilidade de ser o tamanho (peso e comprimento) dos juvenis ao fim do experimento, o principal entrave para o desenvolvimento gonadal.

4. Conclusão

A administração de 17β -estradiol e 17α -metiltestosterona durante 55 dias, não afetou o desempenho zootécnico de robalos-flecha, *C. undecimalis* após 368 dias de criação.

Não foi possível avaliar se a administração destes hormônios influenciou a diferenciação sexual da espécie após 368 dias de criação.

5. Referências

- Alvarez-Lajonchère, L. (2004). Cultivo de robalos: potencialidades e resultados. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, 14, 15-21.
- Alvarez-Lajonchère, L., & Tsuzuki, M. Y. (2008). A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research*, 39: 684-700.
- Anderson, T., & Forrester, J. (2001). Administration of oestradiol to barramundi, *Lates calcarifer*, induces protandrous sex change. *Perspective in Comparative Endocrinology* Monduzzi Editore, Bologna, 155-164.
- Barroso, M. V., Souza, G. A. P., Thomé, J. C. A., Leite Júnior, N. O., Moreira, L. M. P., Sangalia, C. Sales, E. F., & Durão, J. N. (2007). Estratégias de conservação das populações de robalo-flechas *Centropomus spp.* na foz do Rio Doce, Linhares, Espírito Santo, Brasil. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 2, 2, 1465-1468.
- Beardmore, J. A., Mair, G. C., & Lewis, R. I. (2001). Monosex male production in finfish as exemplified by tilápia: applications, problems and prospects. *Aquaculture*, 197, 283-301.
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Boston: Kluwer, 700.
- Brown-Peterson, N. J., Wyanski, D. M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B. J., & Lowerre-Barbieri, S. K. (2011). A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes, Marine and Coastal Fisheries, 3, 52-70.
- Cabrita, E., Engrola, S., Conceição, L. E. C., Pousão-Ferreira, P., & Dinis, M.T. (2009). Successful Cryopreservation of sperm from sex-reversed dusky grouper, *Epinephelus marginatus*. *Aquaculture*, 287, 152-157.
- Carvalho, C. V. A., Passini, G., Costa, W. M., & Cerqueira, V. R. (2014a). Feminization and growth of juvenile fat snook *Centropomus parallelus* fed diets with different concentrations of estradiol-17 β . *Aquaculture International*, 22, 1391-1401. DOI 10.1007/s10499-014-9754-x.

Carvalho, C. V. A., Passini, G., Costa, W. M., Vieira, B. N., & Cerqueira, V. R. (2014b). Effect of estradiol-17 β on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*). *Acta Scientiarum*, 36, 239-245.

Cavalli, R. O., & Hamilton, S. (2007). A piscicultura marinha no Brasil – Afinal quais as espécies boas para cultivar? *Panorama da Aquicultura*, 17, 50-55.

Cerqueira, V. R. (2002). Cultivo do robalo: Aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Laboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 1, 86.

Cerqueira, V. R. (2004). Cultivo de peixes marinhos. In: Poli, C. R., Poli, A. T. B., Andreatta, E. R. & Beltrame, E. (Eds.). *Aqüicultura: experiências Brasileiras* (pp.369-406). Florianópolis: Multitarefa Editora.

Cerqueira, V. R., & Tsuzuki, M. Y. (2009). A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 17-28.

Cerqueira, V.R., Carvalho, C. V. A., Sanches, E. G., Passini, G., Baloi, M., Rodrigues, R. V. (2017). Manejo de reprodutores e controle da reprodução de peixes marinhos da costa brasileira. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41(1), 94-102.

Chang, C. F., Lau, E. L., & Lin, B. Y. (1995). Stimulation of spermatogenesis or of Sex Reversal according to the doses of exogenous estradiol 17- β in juvenil males of protandrous Black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *General and Comparative Endocrinology*, 100, 355-367.

Condeca, J. B., & Canario, A. V. M. (1999). The Effect of Estrogen on the Gonads and *In Vitro* Conversion of Androstenedione to Testosterone, 11-Ketotestosterone, and Estradiol-17b in *Sparus aurata* (Teleostei, Sparidae). *General and Comparative Endocrinology*, 116, 59-72.

Costa Filho, J., Tsuzuki, M. Y., Mello, G. L. de, Miletti, C., Lückmann, K. H., & Lima-Rosa, C. A. da V. (2017). Growth of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) reared at different temperatures and salinities:

Morphometric parameters, RNA/DNA, and protein/DNA ratios. *Journal of Applied Aquaculture*, 29(3-4), 199–206. doi:10.1080/10454438.2017.1334615.

Cruz, S., Roca, B., Gaitán, S., Chaparro, N., & Villamizar, N. (2018). Natural vs laboratory conditions on the reproductive biology of common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *Aquaculture*, 482, 9-16. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.09.013.

Devlin, R. H., & Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological and environmental influences. *Aquaculture*, 208, 191-364.

Farias, J. L., Zarzar, C. A., Silva-neto, N. G., Silva, F. S., Silva-Júnior, R. F., & Cavalli, R. O. (2017). Tolerância e crescimento de juvenis do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) expostos a diferentes salinidades. *Acta Fish. Aquat. Res.* 5 (3): 54-60. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2017.5.3.54-60>.

Ferraz, E. M., & Cerqueira, V. R. (2010). Influência de diferentes regimes térmicos na maturação sexual de machos de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*. *Boletim do Instituto de Pesca*.

Figueiredo, J. L., & Menezes, N. A. (1980). Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 90.

Frisch, A. (2004). Sex-change and gonadal steroids in sequentially-hermaphroditic teleost fish. *Reviews in Fish Biol. Fisheries*, 14, 481-499.

Gassman, J., Rojas, H. L., & Padrón, D. (2017). Reproducción de los róbalos *Centropomus undecimalis* y *C. ensiferus* (Perciformes: Centropomidae) en una laguna costera tropical. *Revista de Biología Tropical*, 65 (1), 181-194.

Gorshkov, S., Gorshkova, G., & Colorni, B. (2004). Effects of natural estradiol-17 β and synthetic 17 α -ethynylestradiol on direct feminization of european sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 35: 167-177.

Greenwood, P. H. (1976). A review of the family Centropomidae (Pisces: Perciformes) *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist., London*, 29, 1, 1-81.

Grier, H. J., & Taylor, R. G. (1998). Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53, 521-542.

Guiguen, Y., Fostier, A., Pieferrer, F., & Chang, C. F. (2010). Ovarian aromatase ad estrogens: A pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165: 352-366.

Guinle, L. V., Passini, G., Carvalho, C. V. A., & Cerqueira, V. R. (2015). Viabilidade econômica da produção de juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*), Estado de Santa Catarina. *Informações econômicas*, São Paulo, 45, 3.

Herrera, L. A., Kuhnen, V. V., & Sanches, E. G. (2019a). Does intensive feeding frequency affect growth performance of common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792)? *Brazilian Journal of Biology*, 79(3), 505-509. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.186394>.

Herrera, L. A., Santos, A. P. dos, Sousa, O. M. de, Kuhnen, V. V., & Sanches E.G. (2019b). Performance of common snook subjected to different feeding frequencies and rates using automatic feeders. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54, 00225. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00225>.

Ibarra-Castro, L., Alvarez-Lajonchère, L., Rosas, C., Palomino-Albarrán, I. G., Holt, G. J., & Sanchez-Zamora, A. (2011). GnRHa-induced spawning with natural fertilization and pilot-scale juvenile mass production of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *Aquaculture*, 319, 479-483.

Liebl, F., Amaral-Junior, H., Garcia, S., Souto, L. I. M., Carvalho, C. V. A. & Cerqueira, V. R. (2016). Desempenho de juvenis de robalo-flecha e robalo-peva submetidos a diferentes densidades de estocagem em água doce. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(1): 145-155.

Michelotti, B. T., Passini, G., Carvalho, C. V. A., Salbego, J., Mori, N. C., Rodrigues, R. V., Baldisserotto, B., & Cerqueira, V. R. (2018). Growth and metabolic parameters of common snook juveniles raised in freshwater with different water hardness. *Aquaculture*, 482, 31-35. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.08.029

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. (2013). Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Brasil, 2011. Brasília: MPA.

Mylonas, C. C., & Zohar, Y. (2001). Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10: 463-491.

Mylonas, C. C., Fostier, & A., Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 516-534.

Nakamura, M., Bhandari, R. K., & Higa, M. (2003). The role estrogens play in sex differentiation and sex changes of fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28, 113-117.

Oliveira, R. L. M. (2016). Manejo alimentar e desempenho de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (BLOCH, 1792) e de beijupirá, *Ranchycentron canadum* (LINNAEUS, 1766). Tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 70p.

Pandian, T. J., & Sheela, S. G. (1995). Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, 138, 1-22.

Passini, G., Carvalho, C. V. A., Landuci, F. S., Guinle, L., Sterzelecki, F., & Cerqueira, V. R. (2013). Primeira experiência de maturação e desova do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, em cativeiro no Brasil. In: Reunião Científica do Instituto de Pesca, 11, 2013, São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto de Pesca, 143-145. Resumo expandido

Passini, G., Carvalho, C. V. A., Sterzelecki, F. C., & Cerqueira, V. R. (2016). Induction of sex inversion in common snook (*Centropomus undecimalis*) males, using 17 β -estradiol implants. *Aquaculture Research*, 47, 1090-1099. <https://doi.org/10.1111/are.12565>.

Passini, G., Carvalho, C. V. A., Sterzelecki, F. C., Baloi, M. F., & Cerqueira, V. R. (2019). Spermatogenesis and steroid hormone profile in puberty of laboratory-reared common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture*, 500, 622-630. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.031>.

Passini, G., Sterzelecki, F. C., Carvalho, C. V. A., Baloi, M. F., Naide, V., & Cerqueira, V. R. (2018). 17α -Methyltestosterone implants accelerate spermatogenesis in common snook, *Centropomus undecimalis*, during first sexual maturation. *Theriogenology*, 106, 134-140.

Pedrotti, F., Magnotti, C., Sterzelecki, F., & Cerqueira, V. R. (2018a). Acute exposition of common snook juveniles to sublethal levels of nitrate. *Acta Biológica Colombiana*, 23 (3), 304-306. DOI:<http://dx.doi.org/10.15446/abc.v23n3.69726>.

Pedrotti, F., Martins, M. L., Baloi, M., Magnotti, C., Scheuer, F., Sterzelecki, F., & Cerqueira, V. R. (2018b). Mortality, hematology, and histopathology of common snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) exposed to acute toxicity of ammonia. *Journal of Applied Aquaculture*, 30(3), 272–284. doi:10.1080/10454438.2018.1443049.

Pieferrer, F. (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197, 229-281.

Posada-Peláez, C., Santafé-Muñoz, A., Grijalba-Bendeck, M., Bustos-Montes, D., González-Sarmiento, E., De la Hoz-Maestre, J., Castro-Martínez, L., Gómez-Cubillos, C., Guerrero-Bernal, P., Olaya-Reyes, C., Palacio-Barros, C.M., & Restrepo-Gómez, D. (2012). Biological aspects of *Centropomus undecimalis* captured by artisanal fisheries at the Magdalena County, colombian Caribbean. *Aspectos biológicos de Centropomus undecimalis róbalo capturado por la pesca artesanal en el departamento del Magdalena, Caribe colombiano*. 157-173. In: Grijalba-Bendeck, M., Bustos-Montes, D., Posada-Peláez, C., Santafé-Muñoz, A. (2012). *La pesca artesanal marítima del departamento del Magdalena Colombia: una visión desde cuatro componentes*. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. Colombia. 454. ISBN: 978-958-725-112-8.

Rivas, L. R. (1986). Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia*, Lawrence, 3, 579-611.

Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J. J., Le Gac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 390-411.

Taylor, R. G., Whittington, J., Grier, H. J., & Crabtree, R. E. (2000). Age, growth, maturation and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coast of South Florida. *Fishery Bulletin*, 98: 612-624.

Tsuzuki, M. Y., Sugai, J. K., Maciel, J. C., Francisco, C. J., & Cerqueira, V. R. (2007). Survival, growth and digestive enzyme activity of juveniles of the fat snook (*Centropomus parallelus*) reared at different salinities. *Aquaculture*. 271, 19–25. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.002.

Vazzoler, A. E. A. M. (1996). *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: EDUEM, 196p.

Vidal-Lopez, J. M., Álvarez-González, C. A., Contreras-Sánchez, W. M., Patiño, R., Hernández-Franyutti, A. A., Hernández-Vidall, U., & Martínez-García, R. (2012). Feminización de juveniles Del Robalo Blanco *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) usando 17 β -estradiol. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 4, 83-93.

Zohar, Y., & Mylonas C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 197: 99-136.