

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
tese será disponibilizado  
somente a partir de 01/02/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
IBB - INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**PATRICIA POSTINGEL QUIRINO**

A presença de intersexo em *Brycon orbignyanus* (Teleostei: Bryconidae): da  
diferenciação sexual, fisiologia a características sexuais secundárias

Botucatu  
2022

**PATRICIA POSTINGEL QUIRINO**

A presença de intersexo em *Brycon orbignyanus* (Teleostei: Bryconidae): da diferenciação sexual, fisiologia a características sexuais secundárias

Tese apresentada ao Programa de Pós -  
Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)  
– Instituto de Biociências, UNESP, Campus  
de Botucatu, como parte das exigências para a  
obtenção do título de Doutora.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosicleire Veríssimo Silveira**

Botucatu  
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Quirino, Patricia Postingel.

A presença de intersexo em *Brycon orbignyanus* (Teleostei: Bryconidae) : da diferenciação sexual, fisiologia a características sexuais secundárias / Patricia Postingel Quirino. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira  
Capes: 20400004

1. Peixes - Reprodução. 2. Piracanjuba. 3. Diferenciação sexual. 4. Hermafroditismo.

Palavras-chave: Epitélio germinativo; Espículas; Inversão sexual; Piracanjuba; Remodelamento gonadal.

**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE PATRICIA POSTINGEL QUIRINO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.**

Aos 01 dias do mês de fevereiro do ano de 2022, às 08:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de PATRICIA POSTINGEL QUIRINO, intitulada **A presença de intersexo em *Brycon orbignyanus* (Teleostei: Bryconidae): da diferenciação sexual, fisiologia a características sexuais secundárias**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Profa. Dra. TALITA SARAH MAZZONI (Participação Virtual) do(a) Instituto de Ciências Biomédicas / Universidade Federal de Alfenas, Prof. Dr. LÁZARO WENDER OLIVEIRA DE JESUS (Participação Virtual) do(a) Universidade Federal de Alagoas - UFAL, Prof. Dr. SERGIO RICARDO BATLOUNI (Participação Virtual) do(a) Centro de Aquicultura - Unesp, Prof. Dr. GUSTAVO MANUEL SOMOZA (Participação Virtual) do(a) Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET- UNSAM). Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: **APROVADA**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA

*Dedico este trabalho as pessoas que são as razões pelas quais estou aqui: meu pai, Luiz Antônio; minha mãe, Rozângela; meu irmão, Luiz Fernando. A vocês, dedico todo o meu amor.*

*[...] E foi bom. Apenas bom. Profundamente bom.  
Antes, durante e depois da loucura.*

Miguel de Cervantes em  
Dom Quixote de La Mancha

*[...] Creio que não dormirei esta noite... nunca durmo na primeira noite em uma casa estranha, e esta é a cama mais estranha que já vi. Mas isso não tem importância. Sempre amei a noite, e vou gostar de ficar acordada na cama, pensando em tudo na vida, no passado, no presente e no que está por vir. Especialmente no que está por vir.*

Lucy M. Montgomery em  
Anne de Windy Poplars

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e aos bons espíritos que me acompanham em minha vivência terrena.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho - UNESP, que um dia foi meu sonho, hoje é minha casa e sei que será sempre local de acolhimento quando eu precisar voltar.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa concedida.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela bolsa de iniciação científica concedida à minha co-orientada Bárbara C. Bianchini (nº Processo: 2019/27406-3) e aos demais processos com projetos vinculados a esta tese (nº Processo: 2013/24527-8; 2014/23379-8).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo financiamento de projetos vinculados a esta tese (CNPq: 302108/2015 -7; CNPq: 305673/2018-1).

A minha orientadora, Rosicleire Veríssimo Silveira, que um dia foi minha professora de Vertebrados e Fisiologia, depois passou a ser também minha mãe científica orientando minha Iniciação Científica, Mestrado e agora o Doutorado. Acredito que a senhora já saiba, mas muito além de me ensinar ciência e a ter um pensamento crítico, me ensinou a ter postura, a ter curiosidade, a ter independência, a saber lidar com escolhas certas ou erradas e todas as frustrações que poderiam vir delas, a ter postura de líder quando a situação exigir de mim. Eu já fui a Patricia que entrava saltitante e cantante na sua sala, hoje sou a Patricia, ainda cantante, mas que entra de forma mais ponderada e serena, muito mais confiante sobre tudo nessa vida. Não há palavras que eu possa expressar para agradecer por tudo isso, obrigada de todo o coração.

Ao meu professor, Alexandre Ninhaus Silveira, meu pai científico também, que assim como a Rosi, me ensinou tanto sobre ciência como sobre a vida. Acredito que o senhor não perceba isso, mas também me ensinou a lidar com as situações do cotidiano de forma tranquila e equilibrada. Como quando um tanque de experimento pega fogo, quando um equipamento



quebra, quando os peixes morrem, vai tudo ser resolvido com calma, da melhor maneira que tiver de ser. Obrigada por tudo!

Aos membros desta banca, agradeço imensamente por terem aceitado o convite e por contribuírem efetivamente com a minha pesquisa.

A AES Tietê e a Estação de Piscicultura de Promissão, por nos fornecerem os animais utilizados nesta pesquisa.

Aos funcionários da pós graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Ciências de Botucatu, em especial a Davi Müller por todo trabalho, organização e educação impecáveis. E aos funcionários do Departamento de Biologia e Zootecnia da UNESP/FEIS, Meiri, Júnior, Wilder, Sidival e Luzinete. Este trabalho foi desenvolvido com participação especial de vocês. Agradeço por toda a ajuda e colaboração ao longo de tantos anos!

Aos meus pais, Luiz Antônio e Rozângela, e ao meu irmão, Luiz Fernando, saibam que todas as vezes que recebo um elogio, seja por qualquer motivo, agradeço mentalmente a vocês. Não há uma ação, conquista ou luta que eu não faça pensando em deixá-los orgulhosos. Cada passo da minha caminhada eu devo a vocês. Amo-os profundamente.

A todos os meus companheiros do Laboratório de Ictiologia Neotropical, que não listarei absolutamente todos aqui pois ao longo de 8 anos tantas pessoas me ajudaram e me ensinaram que eu poderia correr o risco de falhar com alguém, mas saibam, cada um de vocês contribuiu para que este trabalho fosse desenvolvido. Em especial, agradeço imensamente a Amanda, Cristiane Bashiyo, Geovanna, Elis, Renata, Ricardo (*in memoriam*), Maria Luiza, Laís e Cristal, vocês tornaram-se parte da minha família e sei que sempre encontrarei morada onde estiverem.

A Prof. Dra. Renata G. Moreira e a minha amiga Dra. Giovana de Souza Branco, por terem contribuído com grande parte desta pesquisa, por terem me recebido em meio a uma pandemia e terem me ajudado da melhor forma em tudo quando estive no Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos/USP. Muito obrigada por tudo.

A todos os meus amigos que souberam lidar com o meu afastamento e meu sumiço enquanto desenvolvia esta pesquisa e escrevia esta tese, além de saberem lidar com todos os

meus leves surtos e desabafos. Em especial, agradeço AZAMIGAS que diariamente demonstram lealdade, hombridade, força e me dão esperanças de um futuro melhor, pois um grupo com doze pessoas tão distintas e tão únicas me permite ver que o detalhe das diferenças é justamente o que mantém todo mundo unido.

Tenho a impressão que hoje em dia a vida está sendo tratada de forma tão trivial que em busca de likes alguns sentimentos até chegaram a perder o sentido. Este não é o caso aqui! Agradeço a cada um que passou pela minha vida e deixou em mim uma marca para mudança, para o meu aprendizado e crescimento. Gratidão a absolutamente tudo, até mesmo a tudo que deu errado para que pudesse dar certo no fim.

Obrigada!

## RESUMO

A piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Bryconidae), é uma espécie reofílica de grande interesse comercial na aquicultura, porém está criticamente ameaçada na natureza devido as ações antrópicas. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a diferenciação sexual até a maturidade reprodutiva em *B. orbignyanus* cultivados em sistemas de recirculação de água, a fim de promover conhecimentos para produção e conservação da espécie. Deste modo, foi realizada uma reprodução induzida através de reprodutores previamente selecionados de *B. orbignyanus* na Estação de Aquicultura da U.H.E. de Promissão – AES – Tietê, Promissão/SP. Com um mês de idade foram transferidos para o Laboratório de Ictiologia Neotropical (UNESP/FEIS), onde foram mantidos em condições controladas de cativeiro ( $27 \pm 0,5$  °C, pH  $6,5 \pm 0,6$  e amônia  $0,25 \pm 0,10$  ppm.). Assim que atingiram dois meses de idade, foram realizadas coletas mensais das gônadas, fígado e sangue dos espécimes ( $n=15$ ) até que atingissem um ano, seguidas por coletas posteriores com dois e três anos de idade. Aos três meses de idade, as gônadas até então indiferenciadas, dão origem a fêmeas ( $15.88 \pm 1.31$  cm comprimento total), enquanto que em machos a diferenciação ocorre apenas aos cinco meses de idade ( $18.01 \pm 0.10$  cm comprimento total). No entanto, parte das fêmeas diferenciadas sofrem um processo de inversão sexual, passando por um período de remodelamento gonadal, dando origem a espécimes intersexos ( $22.5 \pm 1.06$  cm comprimento total), pois possuem características gonadais femininas e masculinas ao mesmo tempo. Com a finalização do remodelamento gonadal, espécimes intersexo tem as características femininas nas gônadas regredidas, formando epitélio germinativo testicular e dando origem ao que foi denominado machos secundários. Ademais, a diferenciação sexual em *B. orbignyanus*, embora quantificada temporalmente, também é influenciada pelo crescimento dos espécimes e pela interação de fatores fisiológicos. Os níveis plasmáticos de testosterona (T) ao longo da ontogênese gonadal no primeiro ano de vida destes espécimes são maiores do que de 11-cetotestosterona (11KT), com exceção de machos com maturidade sexual atingida. Dentro dos hormônios esteroides quantificados neste trabalho, 11KT é o provavelmente o hormônio diretamente envolvido na inversão sexual ocorrida nas fêmeas. Ademais, machos primários e machos secundários desenvolvem características sexuais secundárias igualmente, sendo que machos que apresentam nadadeira anal com seis raios ou mais com espículas estão Aptos a Espermiar.

**Palavras-chave:** Epitélio germinativo. Espículas. Inversão sexual. Piracanjuba. Remodelamento gonadal.

## ABSTRACT

Piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Bryconidae), is a rheophilic species of great commercial interest in aquaculture, but it is critically endangered in nature due to anthropic actions. Considering this, the present work aims to study the morphophysiology of sexual differentiation until reproductive maturity in *B. orbignyanus* cultivated in water recirculation systems to provide knowledge for the production and conservation of this species. To do so, an induced reproduction was carried out using previously selected breeders of *B. orbignyanus* at the Aquaculture Station of the Hydroelectric Power Plant of Promissão – AES – Tietê, Promissão/SP. At one month of age, the fish were transferred to the Neotropical Ichthyology Laboratory (UNESP/FEIS), where they were kept in captivity under controlled conditions ( $27 \pm 0.5$  °C, pH  $6.5 \pm 0.6$  and ammonia  $0.25 \pm 0.10$  ppm). As soon as they reached two months of age, samples began being collected from their gonads, liver and blood ( $n=15$ ), until they reached one year of age, followed by further collections at two and three years of age. At three months of age, the undifferentiated gonads give rise to females ( $15.88 \pm 1.31$  total length), whereas in males the differentiation only occurs at five months of age ( $18.01 \pm 0.10$  total length). However, part of the differentiated females undergo a process of sexual inversion, going through a period of gonadal remodeling, and then giving rise to intersex specimens ( $22.5 \pm 1.06$  total length), as they have female and male gonadal characteristics at the same time. At the end of this process, intersex specimens have the female characteristics in the regressed gonads, forming testicular germinal epithelium and giving rise to the so-called secondary males. Furthermore, the sexual differentiation in *B. orbignyanus*, although quantified over time, is also influenced by the growth (total length) of the specimens and by the interaction of physiological factors. Plasma testosterone (T) levels throughout gonadal ontogenesis in the first year of life of these specimens are higher than that of 11-ketotestosterone (11KT), except for males that reached sexual maturity. Among the steroid hormones quantified in this work, 11KT is probably the hormone directly involved in the sex inversion that occurred in the females. Furthermore, primary males and secondary males develop secondary sexual characteristics equally, males that present an anal fin with six rays or more with hooks are Spawning Capable.

**Keywords:** Bony hooks. Germinal epithelium. Gonadal remodeling. Sex inversion. Piracanjuba.

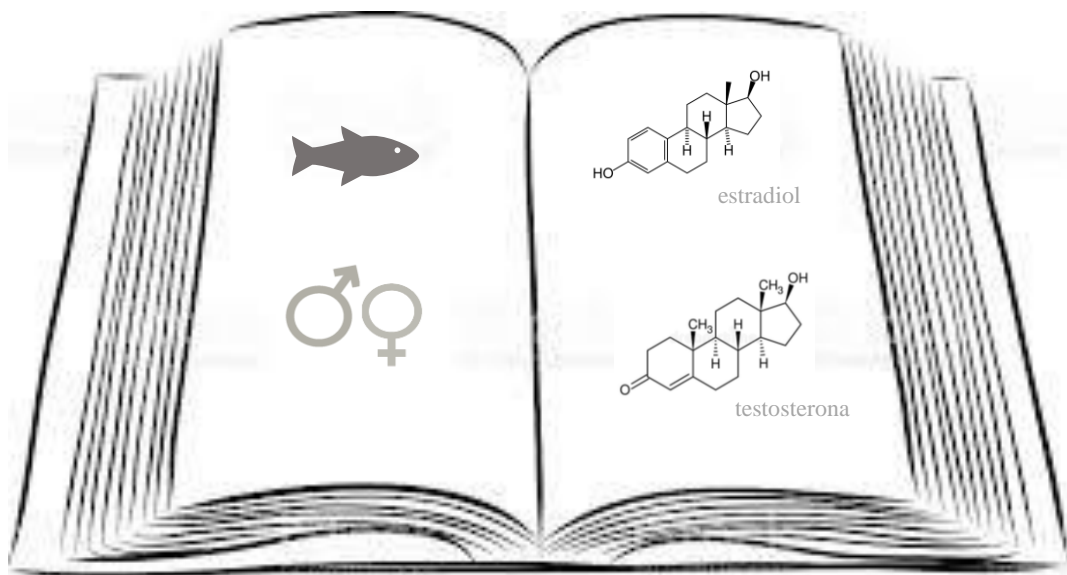
## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	14
REVISÃO DE LITERATURA.....	15
Reprodução dos peixes e a aquicultura no Brasil.....	15
Determinação e Diferenciação sexual em peixes.....	18
Eixo hipotálamo, hipófise e gônadas.....	22
A espécie modelo .....	25
OBJETIVOS .....	27
Objetivos específicos.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	37
Female sex inversion as a reason for an unbalanced sex ratio in the neotropical species <i>Brycon orbignyianus</i> .....	38
ABSTRACT.....	38
INTRODUCTION .....	39
MATERIALS AND METHODS.....	40
RESULTS .....	42
DISCUSSION.....	67
ACKNOWLEDGMENTS .....	69
REFERENCES .....	70
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	74
Esteroides androgênicos são os agentes da inversão sexual em .....	75
<i>Brycon orbignyianus</i> ? .....	75
INTRODUÇÃO .....	76
MATERIAL E MÉTODOS .....	77
RESULTADOS .....	79

DISCUSSÃO .....	84
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>91</b>
Dispersão de espículas na nadadeira anal de machos primários e secundários em <i>Brycon orbignyana</i> : característica sexual secundária para seleção de reprodutores .....	92
RESUMO.....	92
INTRODUÇÃO .....	93
MATERIAIS E MÉTODOS .....	94
RESULTADOS .....	97
DISCUSSÃO .....	106
REFERÊNCIAS.....	108
<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	<b>112</b>

# CAPÍTULO 1

## Revisão de Literatura



## REVISÃO DE LITERATURA

### Reprodução dos peixes e a aquicultura no Brasil

Os teleósteos formam o maior grupo de animais dentre os vertebrados, com cerca de 35.729 espécies já descritas e, constantemente, possuindo atualizações de novas descrições. A exemplo disto, nos últimos dez anos, 4.148 espécies foram descritas e validadas (FRICKE; ESCHMEYER; VAN DER LAAN, 2020). Este grande número de espécies é resultado da diversidade biológica apresentada por estes animais em relação à morfologia, fisiologia, ocupação de habitats, modos de forrageamento, dentre outros (ZAGO; PAIVA, 2016).

A ampla diversidade biológica e, conseqüentemente, as adaptações que habilitam estes organismos a viverem nos mais distintos ambientes, refletem diretamente nas suas estratégias reprodutivas, tanto em relação a eventos comportamentais, como modos de acasalamento, corte, presença ou ausência de migração reprodutiva (ALMEIDA, 2013), quanto em relação a eventos sexuais, como reprodução interna ou externa (HILSDORF; MOREIRA; MARINS, 2014), e até mesmo na determinação e diferenciação sexual (NAKAMURA *et al.*, 1998, DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; FERNANDINO; HATORRI, 2019).

Deste modo, a reprodução de peixes é modulada por fatores endógenos (hormonais) e exógenos (fotoperíodo, chuvas, temperatura, condutividade da água) e a estabilidade desses gatilhos ambientais em relação às estações do ano são fundamentais para o sucesso reprodutivo das espécies (VAZZOLER, 1996; RIBEIRO; MOREIRA, 2012; RIZZO; BAZZOLI, 2014). Estes estímulos ambientais atuam no hipotálamo induzindo a produção de hormônios e, conseqüentemente, desencadeando uma cascata hormonal que modula a reprodução como um todo (Fig. 1) (RIBEIRO; MOREIRA, 2012; HONJI; ARAÚJO; MOREIRA, 2020).

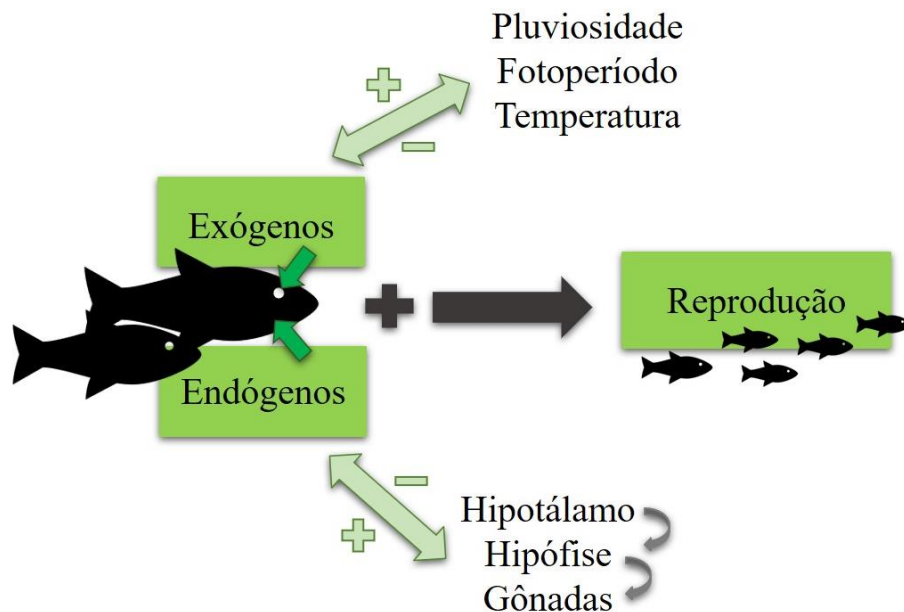
Contudo, as alterações ambientais, como aumento de fotoperíodo, períodos prolongados de seca, aumento da temperatura das águas, modificações em habitats devido à construção de barragens (SATO *et al.*, 2005), alterações químicas ou poluições nos rios resultantes de esgoto doméstico podem levar a alterações na percepção do meio pelos animais, gerando problemas na reprodução ou até mesmo impedindo-a de acontecer (TETREAULT *et al.*, 2011; KIDA; ABDALLA; MOREIRA, 2016; TOLUSSI *et al.*, 2018).

Nas regiões tropicais, por exemplo, a reprodução das espécies anuais tem início na primavera e prolonga-se até o final do verão, devido ao efeito do início das estações chuvosas e fotoperíodo prolongado (VAZZOLER, 1996; RIZZO; BAZZOLI, 2014). Esse é o período conhecido como defeso, estabelecido por lei para proteção dos animais migradores durante a piracema (ICMBIO, 2018), contudo a construção de barragens interrompe a rota migratória de



muitas espécies, modificando habitats além de funcionar como uma barreira física aos animais que estão a jusante, contribuindo negativamente para a reprodução destas espécies (AGOSTINHO *et al.*, 1993; SATO *et al.*, 2005).

**Figura 1:** Fatores que influenciam positiva ou negativamente a reprodução de peixes.



**Fonte da imagem:** própria autora.

O caraciforme curimatá-pacu, *Prochilodus argenteus*, nativo do Rio São Francisco é um exemplo de espécie que enfrenta problemas migratórios, pois por serem impedidos de subirem para as cabeceiras, devido à construção da barragem de Três Marias, não atingem a maturidade sexual devido aos níveis quase nulos de esteroides sexuais produzidos (ARANTES *et al.*, 2010). Como consequência disso ocorrem reduções de estoques naturais das populações, a exemplo da piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, se tornaram escassos devido ao grande barramento na sua bacia de origem impedindo a reprodução de modo natural (ASHIKAGA *et al.*, 2015).

Nesse contexto, e como forma de mitigação os efeitos negativos dessas modificações de habitats, a reprodução induzida promovida em cativeiro vem sendo utilizada por órgãos governamentais em programas de repovoamento de espécies nativas (ICMBIO, 2018). Entretanto, falhas nestes processos podem ocorrer, como a perda da variabilidade genética

(ASHIKAGA *et al.*, 2015), estresse (GNEIDING *et al.* 2019), restrição alimentar (NASCIMENTO *et al.*, 2021) e principalmente devido à falta de conhecimento básicos a respeito da biologia reprodutiva e do desenvolvimento inicial das espécies nativas, necessitando de aprimoramento das técnicas de criação (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005; RIZZO; BAZZOLI, 2014). Por isso, o conhecimento das características morfológicas das gônadas constitui uma etapa básica e fundamental para o entendimento da biologia reprodutiva das espécies e constitui etapa primordial para estabelecimento de medidas de conservação da ictiofauna nativa (CREPALDI, 2006; QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER; ISHIBA, 2013) além de ser essencial para o desenvolvimento de técnicas para a utilização nas reproduções induzidas para produção aquícola.

O cultivo de peixes para fins comerciais no Brasil teve início, provavelmente, no século 17 (VALENTI *et al.*, 2021). Contudo, mesmo sendo um país com um território continental com cerca de 12% de toda água doce do planeta, apenas no final do século 20 e início do século 21, o Brasil passou a demonstrar desenvolvimento de tecnologias e o potencial para se tornar um dos grandes produtores mundiais de pescado (OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2007; SCHULTER, VIEIRA-FILHO, 2017). Além de disponibilidade de ambientes e clima favorável, o Brasil ainda possui imensa biodiversidade de espécies com grande potencial zootécnico, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), o cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), a piracanjuba (*B. orbignyanus*), além do cultivo de híbridos resultantes dessas espécies (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005; VALENTI *et al.*, 2021).

Considerando o cultivo de peixes marinhos, peixes dulcícolas, crustáceos e anfíbios, a produção aquícola brasileira em 2019 bateu o recorde de 800 mil toneladas, o que significa um ganho de cerca de 1 bilhão de reais na receita bruta do país (FAO, 2020). O cultivo de peixes de água doce representa cerca de 90% de toda essa produção, sendo a tilápia (*Oreochromis niloticus*) o peixe de maior interesse comercial, seguido por tambaqui e pacu (SCHULTER, VIEIRA-FILHO, 2017; FAO, 2020).

Por mais que estes números pareçam impressionantes, atualmente o Brasil ainda ocupa a décima segunda colocação no ranking global de maiores produtores de peixes de água doce (FAO, 2020). Tal dado reforça a concepção da necessidade de investimento sobre estudos que esclareçam a biologia reprodutiva das espécies nativas de interesse comercial, para que possam ser, além de preservadas em meio natural, cultivadas em sistemas de produção com eficácia (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005; DE SIQUEIRA-SILVA; RODRIGUES; NÓBREGA 2019). Assim, estudos que descrevam ciclos reprodutivos, desenvolvimentos embrionários,

variações no modo de determinação sexual e variações temporais de diferenciação sexual das espécies alvo são fundamentais para o futuro desenvolvimento de biotecnologias focadas na produção de espécies nativas (VALENTI *et al.*, 2021).

### **Determinação e Diferenciação sexual em peixes**

Em peixes a determinação sexual pode ser mediada por fatores genéticos, fisiológicos ou comportamentais, sendo determinada a partir da influência de fatores exógenos, como temperatura, densidade, entre outros (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; FERNANDINO; HATTORI, 2019). Nas espécies em que ocorre determinação sexual genética, há também uma ampla variação de fatores, pois peixes podem ter determinação sexual a partir de cromossomos sexuais específicos com sistemas XX-XY como o medaka *Oryzias latipes* (KONDO *et al.*, 2003), *Oreochromis niloticus* (LEE; PENMAN; KOCHER, 2003; LI *et al.*, 2015) ou os peixes neotropicais *Poecilia reticulata* e *Hoplias malabaricus* (ALMEIRA-TOLEDO; FORESTI, 2001), além de sistemas ZZ-ZW como *Characidium* sp. (UTSUNOMIA *et al.*, 2017) *Leporinus* sp. (VENERE *et al.*, 2004) e *Hypostomus* sp. (ARTONI *et al.*, 1998).

Por outro lado, algumas espécies não apresentam cromossomos sexuais específicos, tendo genes determinantes sexuais espalhados pelos cromossomos autossômicos, como é o caso dos peixes neotropicais *Brycon orbignyanus* (MARGARIDO; GALETTI-JUNIOR, 1999), *Rhamdia quelen* (GARCIA; OLIVEIRA; ALMEIDA-TOLEDO, 2010) e *Arapaima gigas* (MARQUES; VENERE, GALETTI-JÚNIOR, 2006).

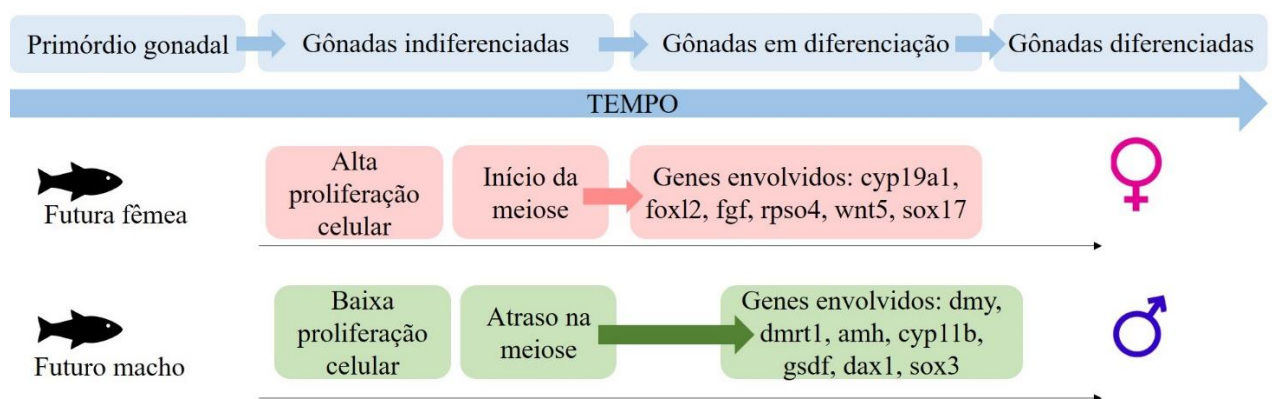
Os estudos genéticos em peixes tomaram grandes proporções com a utilização de *Oryzias latipes* e *Danio rerio* (medaka e zebrafish, respectivamente) como modelos biológicos para o desenvolvimento de pesquisas devido às suas características de fácil manejo e acondicionamento em laboratório (STREISINGER *et al.*, 1981; ISHIKAWA *et al.*, 2000). Assim, a determinação sexual em peixes vem sendo elucidada desde a década de 90 com o auge dos estudos envolvendo biologia molecular para vertebrados basais ao final deste período. O gene SRY, por exemplo, localizado no cromossomo Y, foi o primeiro gene descrito a ser ligado a determinação sexual em função dos estudos desenvolvidos em humanos (SINCLAIR *et al.*, 1990).

A partir disso, vários outros genes foram relacionados a diferenciação sexual em mamíferos, como *Dmrt1*, *Dax1*, *Wt-1*, *Sf-1*, *Foxl2*, *Rspo1*, *Sox9* e *Wnt4* (MANSEN *et al.*, 2018). Entretanto, genes que são considerados principais atuantes na diferenciação sexual em mamíferos, podem não estar presentes ou não desempenhar funções diretas no mesmo evento

em peixes (Fig. 2), por exemplo, em medaka, com determinação sexual heterogamética masculina (XX-XY), foi identificado o gene DMY como análogo ao SRY (MATSUDA *et al.*, 2002; MATSUDA; SAKAIZUMI, 2009), enquanto que em *O. dancena* os genes Sox3 e Gsdf são os responsáveis pela diferenciação masculina (TAKEHANA *et al.*, 2014) (Fig. 2). Em tilápia, sabe-se que nos primeiros dias de desenvolvimento das larvas os perfis de expressão gênica quase não diferem entre os sexos, contudo, a medida que a diferenciação sexual é iniciada em fêmeas, ao redor de 30 dias pós fertilização, os perfis de expressão gênica entre ambos os sexos tornam-se distintos, sendo transcritos os genes Hsp11, Svep1 e Foxl2 apenas em fêmeas diferenciadas e, ao redor de 90 dias pós fertilização, com o início da diferenciação sexual masculina, são transcritos Amh, Cyp11b, Dmrt1, Sox9b, Gsdf e 3 $\beta$ Hsd apenas em machos (Fig. 2)(TAO *et al.*, 2018).

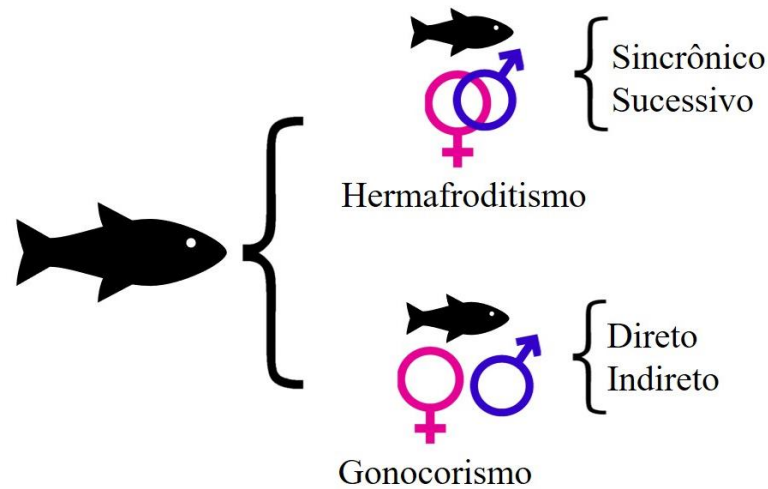
Diferentemente da determinação sexual, a diferenciação sexual refere-se a uma série de eventos modulados por cascatas de expressões gênicas em que as gônadas, até então indiferenciadas, podem se diferenciar em testículos ou ovários funcionais (BAROILLER; GUIGUEN; FOSTIER, 1999; KITANO, 2018). Peixes podem apresentar dois tipos de comportamento reprodutivo quando adultos (Fig. 3), sendo classificados em gonocóricos (indivíduos que apresentam sexos separados) ou hermafroditas (indivíduos que apresentam concomitantemente os órgãos reprodutores dos dois sexos) (YAMAMOTO, 1969; DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; ADOLFI *et al.*, 2019).

**Figura 2:** Eventos ocorridos durante a diferenciação sexual em peixes.



**Fonte da imagem:** adaptado de Martinez *et al.*, 2014.

**Figura 3:** Gonocorismo e hermafroditismo em peixes.



**Fonte da imagem:** própria autora.

Apesar de ser considerado raro entre peixes, espécies hermafroditas com desenvolvimento gonadal simultâneo desenvolvem testículos e ovários funcionais ao mesmo tempo, como é o caso de espécies da família Gobiidae (COLE; HOESE, 2001; KUWAMURA *et al.*, 2020). Por outro lado, em espécies hermafroditas com desenvolvimento gonadal sucessivo (ou sequenciais), os animais desenvolvem testículos ou ovários funcionais em um período e desenvolvem o sexo oposto em outro período da vida, sendo protogínios ou protrândricos (proto = primeiro, gynos = fêmea, androus = masculino) (MITCHESON; MIN LIU, 2008; KUWAMURA *et al.*, 2020). Em espécies da família Amphiprioninae, os peixes-palhaços, são protrândricos, tendo a reversão sexual ocorrida de forma gradual (CASADEVALL *et al.*, 2009) e amplamente investigada na biologia molecular devido ao conhecimento escasso e complexo das transcrições gênicas ocorridas durante o período de reversão macho-fêmea (CASAS *et al.*, 2016).

Em espécies gonocóricas com desenvolvimento gonadal indireto, a gônada indiferenciada inicia o seu desenvolvimento como um ovário e, posteriormente, parte dos indivíduos se torna macho e parte se mantém como fêmea (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002). Este é o caso do cipriniforme *Danio rerio* (Zebra Fish) (TAKAHASHI, 1977; ORTEGA-RECALDE *et al.*, 2019) e do caraciforme *Gymnocorymbus ternetzi* (Tetra Negro) (MAZZONI *et al.*, 2015). Por outro lado, animais que possuem desenvolvimento gonadal direto, a gônada indiferenciada inicia o desenvolvimento diretamente em um ovário ou um testículo, como no caso do cipriniforme *Cyprinus carpio* (carpa comum) (MAZZONI *et al.*, 2010) e do siluriforme *Pseudoplatystoma fasciatum* (Surubim) (VALENTIN *et al.*, 2016; VALENTIN *et al.*, 2019).

Cada espécie apresenta características particulares no que se refere a diferenciação sexual, contudo, alguns padrões são conservativos, de forma que inicialmente os animais apresentam o que se chama de primórdio gonadal, formado a partir de células germinativas primordiais (originadas a partir de células do epiblasto) e células somáticas (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; MAZZONI; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2021). À medida que a morfogênese ocorre, a proliferação mitótica aumenta e o órgão passa a ser internamente vascularizado, originando uma gônada indiferenciada (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; MAZZONI *et al.*, 2010; MAZZONI *et al.*, 2014).

Os principais indícios de início da diferenciação gonadal são percebidos quando há um aumento da mitose, tanto em células germinativas primordiais, quanto de células somáticas (STRÜSSMANN, TAKASHIMA; TODA, 1996; DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; MEIJIDE *et al.*, 2005). A partir deste momento, uma série de modificações e eventos biológicos ocorrem nos órgãos que futuramente serão ovários ou testículos funcionais, de forma que machos e fêmeas possuem distinções tanto temporais quanto morfológicas e genéticas ao longo deste processo (Fig. 2) (VALENTIN *et al.*, 2016; VALENTIN *et al.*, 2019).

O início da meiose na diferenciação é percebido por meio das claras diferenças morfológicas ocorridas nos núcleos de oogônias ou espermatogônias, contudo, machos e fêmeas passam a ter organizações integralmente diferentes (MAZZONI *et al.*, 2015). Fêmeas iniciam a diferenciação sexual antes dos machos, onde nota-se a intensa proliferação mitótica e posteriormente meiótica dando início a formação de cistos de oócitos dispostos na porção dorsal das gônadas, enquanto que em machos, nota-se a organização de espermatogônias alinhadas lado a lado, formando cordões espermatogoniais, que com o início da meiose darão início a formação de futuros lóbulos ou túbulos testiculares (MAZZONI *et al.*, 2010; MAZZONI *et al.*, 2014; VALENTIN *et al.*, 2016; VALENTIN *et al.*, 2019).

Em zebrafish, um conhecido exemplo de espécie gonocorista com desenvolvimento indireto, os animais que iniciam o processo de reversão, denominados intersexo (futuros machos) (TAKAHASHI, 1977; CHEN; GE 2013) possuem uma notável proliferação mitótica muito mais numerosa que fêmeas verdadeiras, de modo que quando as oogônias passam a ser individualizadas pelas células somáticas, tem-se o “start” para futura diferenciação testicular e remodelamento gonadal (TAKAHASHI, 1977). O período de intersexo, para estes animais, ainda é considerado quando em meio a túbulos imaturos (ainda em formação), porém repletos de espermatogônias e espermátócitos, ocorrem oócitos íntegros ou oócitos em degeneração (TAKAHASHI, 1977; UCHIDA *et al.*, 2002).

Assim, o período de diferenciação sexual tem sido amplamente estudado por ser temporalmente espécie específico, além disso, dentro de uma mesma espécie ainda pode haver alteração de tempo, já que a diferenciação sexual pode ser influenciada por fatores exógenos (ZALUSKI, 2018). Desta forma, a caracterização e o conhecimento a cerca deste período de alta plasticidade das gônadas é fundamental para o desenvolvimento de biotecnologias para reversão sexual (FERNANDINO; HATTORI, 2019; DUSSENNE *et al.*, 2020), técnica utilizada na aquicultura visando a obtenção de populações monosexo, em espécies no qual um sexo cresce mais rápido ou atinge a maturidade sexual anteriormente ao outro, favorecendo o seu cultivo na aquicultura, como é o caso de *Oreochromis niloticus* (MARTINEZ *et al.*, 2014; NIVELLE *et al.*, 2019).

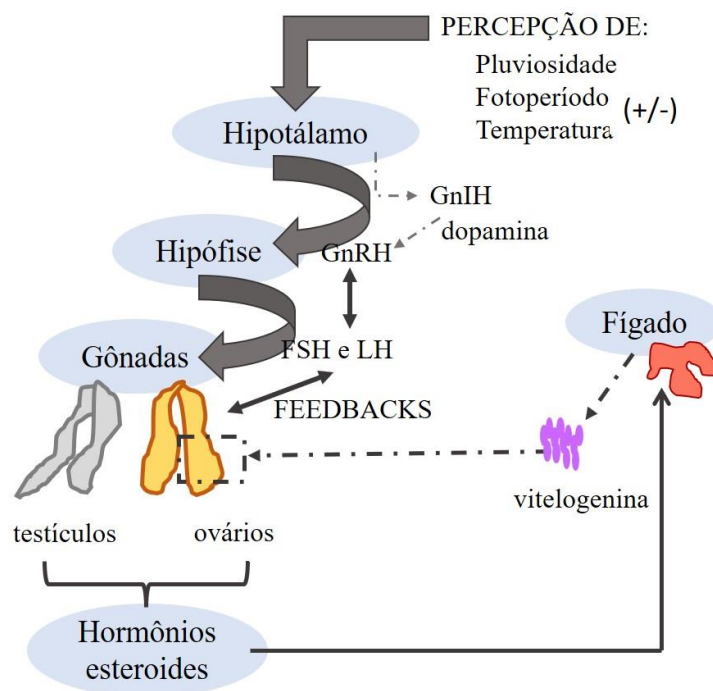
### **Eixo hipotálamo, hipófise e gônadas**

A reprodução de vertebrados é modulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-gônadas através de síntese de hormônios específicos ao eixo (MOYES; SCHULTE, 2010). O hormônio liberador de gonadotropinas (Gnrh) é sintetizado no hipotálamo e atua na região anterior da hipófise (adenohipófise), onde irá estimular a síntese e liberação das gonadotropinas Fsh (hormônio folículo estimulante) e Lh (hormônio luteinizante), que via corrente sanguínea, atuarão nos ovários e testículos estimulando a síntese de esteroides gonadais (Fig. 4) (HISDORF; MOREIRA; MARINS, 2014; KITANO, 2018). De forma geral, o Fsh é responsável pelo desenvolvimento das gônadas em relação ao ciclo reprodutivo, enquanto que o Lh atua principalmente na maturação final dos gametas, permitindo liberação de oócitos e espermatozoides funcionais no momento da reprodução (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002).

Enquanto o Gnrh é um hormônio de estimulação, o hormônio inibidor de gonadotropinas (Gnih) é o seu antagonista e age inibindo a ação do Gnrh (TSUTSUI, 2009; MUÑOZ-CUETO *et al.*, 2017). Além do Gnih outros neuromoduladores podem inibir a ação de Gnrh impedindo que a reprodução aconteça em animais que não estão em condições ideais (HONJI; MOREIRA, 2017). Normalmente, animais que estão sob estresse prolongado possuem altos níveis de dopamina circulante, um neurotransmissor que acaba afetando a maturação dos gametas, uma vez que inibe a liberação de Gnrh pelo hipotálamo (ALMEIDA, 2013; GANESH, 2021). Além disso, níveis elevados de dopamina podem ser responsáveis por reversão sexual em peixes com determinação e diferenciação sexual relacionados a comportamentos sociais (DUFOUR *et al.*, 2005; ZOHAR *et al.*; 2010).

A síntese de Fsh e Lh é primordial para o desenvolvimento das gônadas já no início da vida do animal, uma vez que a diferenciação sexual em gônadas bipotentes é regulada primariamente por hormônios esteroides (Fig. 5) como 17- $\beta$ -Estradiol ( $E_2$ ), principal atuante no desenvolvimento ovariano, e 11-cetotestosterona (11KT), como hormônio principal da diferenciação em machos de teleósteos (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; KITANO, 2018; HONJI; ARAÚJO; MOREIRA, 2020). Assim, os hormônios esteroides tem efeitos diretos nas células germinativas, bem como atuam em células somáticas das gônadas envolvidas regulando o seu desenvolvimento (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002).

**Figura 4:** A regulação hormonal em peixes.



**Fonte da imagem:** adaptado de Schneider e Poehland, 2009.

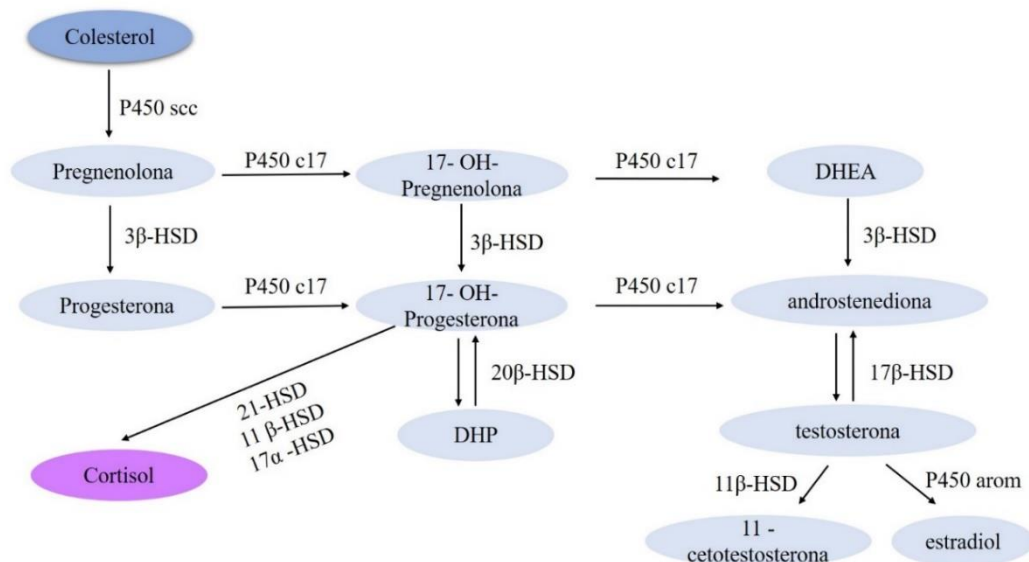
Todos os hormônios esteroides são derivados de colesterol que a partir de clivagem da cadeia lateral por meio de P450<sub>scc</sub> origina pregnenolona (TOKARZ *et al.* 2015). A partir disso, uma série dinâmica de enzimas (complexo P450, 3- $\beta$ HSD, 17- $\beta$ HSD) são responsáveis pela produção de progesterona, testosterona e estradiol (Fig. 5) (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; TOKARZ *et al.* 2015). A complexidade da biossíntese de hormônios esteroides sexuais é ainda mais evidenciada quando se observa que a via de síntese pode sofrer alterações caso seja bloqueada, o que resultará na interrupção de produção de hormônios essenciais à diferenciação ou desenvolvimento sexual da espécie em questão (FERNANDINO; HATTORI, 2013).



Com os adventos da biologia molecular, atualmente já são conhecidos alguns dos genes responsáveis pelas transcrições de enzimas cruciais na regulação hormonal durante a diferenciação sexual em peixes, como por exemplo o gene *cyp19a1a*, responsável pela transcrição de aromatase gonadal, a enzima que é responsável pela conversão de testosterona em 17 $\beta$ -estradiol (PIFERRER; BLAZQUEZ, 2005; FERNANDINO; HATTORI, 2019). Por outro lado, a expressão do gene *dmrt1* inibe a transcrição de gonadal aromatase, impedindo a conversão dos estrogênios e culminando na diferenciação de gônadas masculinas (KITANO, 2018).

Além da ação de hormônios no controle da reprodução, os animais percebem o meio externo através de órgãos do sentido específicos e recebem estímulos exógenos (ambientais), que por sua vez modulam o controle endógeno (hormonal) (MOYES; SCHULTE, 2010). Deste modo, ter conhecimento sobre os perfis hormonais das espécies é essencial no que diz respeito à produção visando repovoamento ou atividades econômicas na piscicultura, de modo que o estudo da fisiologia reprodutiva das espécies, necessariamente deve estar atrelado ao conhecimento dos hábitos, do ambiente e da genética das espécies (HISDORF; MOREIRA; MARINS, 2014).

**Figura 5:** Principais vias de biossíntese de hormônios esteroides. DHEA: Dehidroepiandrosterona. DHP: Dihidroprogesterona.



**Fonte da imagem:** adaptado de Schneider e Poehland, 2009.

### **A espécie modelo**

A subfamília Bryconinae abriga, dentro do gênero *Brycon*, algumas espécies com potencial para piscicultura e pesca esportiva (CASTAGNOLLI, 1992). É o caso de *Brycon orbignyanus* (VALENCIENNES, 1849), conhecida popularmente como piracanjuba, bracanjuba, ou até mesmo, salmão-crioulo, devido à apreciação de sua carne (CECCARELLI, 2010). A piracanjuba é uma espécie nativa, encontrada em toda a Bacia do Paraná-Uruguai, sendo mais abundante nos rios Grande e Paraná (CASTAGNOLLI, 1992; LIMA, 2017).

A espécie possui corpo em formato fusiforme, cabeça pequena, com boca em posição terminal, nadadeira anal longa e a caudal bifurcada. A característica que mais lhe representa e a distingue de outros briconídeos é a coloração da nadadeira caudal, que varia de tons de carmim a vermelho. É encontrada em águas claras de ambientes lóticos e possuem hábito alimentar onívoro (MACIEL, 2006). A fêmea atinge cerca de 80 cm de comprimento total e até 8,2 kg de peso vivo, enquanto o macho alcança 68 cm e 3,6 kg (CECCARELLI, 2010). O macho chega à maturidade sexual por volta dos dois anos, com cerca de 20 cm de comprimento. Já a fêmea atinge a maturidade sexual por volta dos 3 anos de idade, e cerca de 25 cm de comprimento. Possuem período reprodutivo sazonal, de modo que a piracema se estende durante os meses mais chuvosos, sendo de setembro a janeiro (VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000).

A piracanjuba desperta grande interesse comercial, sendo considerado um dos peixes de água doce de carne mais saborosa e apreciada. Além disso, outro fator de grande interesse econômico que a espécie desperta está relacionado à pesca esportiva, pois é um peixe que demonstra comportamento muito agressivo quando é fisgado (VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000; BORBA, 2003).

Por ser uma espécie reofilica, àquelas que precisam migrar para que a reprodução aconteça, a piracanjuba vem sofrendo problemas com a reprodução de modo natural (BORBA, 2003), além de despertar grande interesse social, econômico e à influência antrópica em seu ambiente natural, desde 1996, *Brycon orbignyanus* encontra-se no “Livro Vermelho da Fauna Brasileira” (ICMBIO, 2018), classificada como espécie “em perigo” (criticamente ameaçada), de acordo com a classificação estabelecida internacionalmente pela União Internacional para Conservação da Natureza (UICN). Tal situação torna-se preocupante, e os esforços para criação da espécie em cativeiro vindo sendo estudados (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005). Contudo, a reprodução da piracanjuba em cativeiro ainda apresenta dificuldades, pois além de serem animais reofilicos, é uma espécie altamente sensível ao estresse do manejo e, normalmente, perde-se muitos reprodutores (SOUTO *et al.*, 2017). Aliadas a estas dificuldades

para reprodução da espécie, a produção de piracanjuba em cativeiro ainda desperta interesse devido ao fato de que foi recentemente descrita com desenvolvimento gonocorista direto de modo que é comum que as populações apresentem proporções sexuais de 2:1 (macho:fêmea) (ZARDO *et al.*, 2021), fato curioso, pois foge da normalidade para espécie com desenvolvimento deste tipo (PLA *et al.*, 2021).

Comparada com outras espécies, a piracanjuba é avaliada como um peixe com bom desempenho na aquicultura e pode produzir altos rendimentos em filés de peixe (FREATO, 2005). Contudo, ainda é muito mais produzida para fins de repovoamento do que para o consumo humano (ZANIBONI-FILHO *et al.*, 2006), fato controverso, visto seu grande potencial já descrito na aquicultura. O matrinxã, *B. amazonicus*, é uma espécie de mesmo gênero e desponta como segunda espécie mais produzida na aquicultura da região norte do país, fato que pode ser atribuído ao grande conhecimento científico já descrito sobre a reprodução e a produção em cativeiro desta espécie (BRANDÃO *et al.*, 2005; PONTES *et al.*, 2017). Assim, nota-se a necessidade de explanação sobre a biologia reprodutiva da piracanjuba, *B. orbignyanus*, a fim de estabelecer conhecimentos aplicáveis para o melhoramento da sua produção aquícola.

Diante do que foi abordado, as hipóteses deste trabalho são: 1- a proporção sexual desbalanceada em *Brycon orbignyanus* (2:1) é reflexo de alterações morfológicas ocorridas durante o processo de diferenciação sexual; 2- a inversão sexual ocorrida em fêmeas de *Brycon orbignyanus* é modulada por andrógenos; 3- as características sexuais secundárias presentes em machos de *Brycon orbignyanus* ocorrem no período reprodutivo, tanto em machos primários, quanto em machos secundários.

## OBJETIVOS

Considerando a situação atual da produção aquícola brasileira e seus notórios benefícios econômicos, além de considerar a importância biológica desta espécie e os riscos ecológicos iminentes nos quais a espécie está submetida, esta pesquisa tem por objetivo estudar a diferenciação sexual de *Brycon orbignyanus* (Bryconidae) em detalhes, a fim de elucidar a morfologia e fisiologia reprodutiva da espécie, estendendo-se desde o desenvolvimento gonadal inicial, a diferenciação até a maturidade sexual da espécie.

### Objetivos específicos

- Categorizar temporalmente os eventos ocorridos durante a diferenciação sexual de machos e fêmeas de *B. orbignyanus*;
- Descrever morfologicamente o remodelamento gonadal ocorrido durante a inversão sexual de fêmeas de *B. orbignyanus* e descrever a formação do epitélio germinativo de machos e fêmeas *B. orbignyanus* após os eventos de diferenciação sexual;
- Avaliar a concentração plasmática de andrógenos durante a diferenciação sexual em *B. orbignyanus*;
- Avaliar o desenvolvimento das características sexuais secundárias em machos de *B. orbignyanus*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADOLFI, M. C.; NAKAJIMA, R. T.; NÓBREGA, R. H.; SCHARTL, M. Intersex, Hermaphodirism, and Gonadal Plasticity in Vertebrates: Evolution of the Mullerian Duct and Amh/Amhr2 Signaling. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 7, 2019.
- AGOSTINHO, A. A.; MENDES, V. P.; SUZUKI, H. I.; CANZI, C. Avaliação da atividade reprodutiva da comunidade de peixes dos primeiros quilômetros a jusante do reservatório de Itaipu. **Revista UNIMAR**, v. 1, 175-189, 1993.
- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v. 37, n.2, 2013.
- ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F. Morphologically differentiated sex chromosomes in neotropical freshwater fish. **Genetica**, v. 111, n. 1, 91-100, 2001.
- ARANTES, F. P.; SANTOS, H. B.; RIZZO, E.; SATO, Y.; BAZZOLI, N. Profiles of sex steroids, fecundity and spawning of the curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream from the Trêm Marias dam, Southeasternn Brazil. **Animal Reproduction Science**, v. 118, 2010.
- ARTONI, R.F.; VENERE, P.C.; BERTOLLO, L.A.C. A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Cytologia**, v.63, n.04, 1998.
- ASHIKAGA, F. Y.; ORSI, M. L.; OLIVEIRA, C.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F. The endangered species *Brycon orbignyianus*: genetic analysis and definition of priority areas for conservation. **Environmental Biology Fishes**, v. 98, 1845-1855, 2015.
- BALDISSEROTTO. B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: EditoraUFSM, 2005, 468 p.
- BAROILLER, J. F.; GUIGUEN, Y.; FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 55, n. 6-7, 910-931, 1999.
- BORBA, M. R. **Exigência energética e relação carboidrato: lipídio para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyianus*)**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, 2003.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; ARAÚJO, L. D.; SILVA, A. L. F. Densidade de estocagem de matrinxã (*Brycon amazonicus*) na recria em tanque-rede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.3, 299-303, 2005.
- CASADEVALL, M.; DELGADO SUREDA, E.; COLLEYE, O.; BER MONSERRAT, S.; PARMENTIER, E. Histological study of the sex-change in the skunk clownfish Amphiprion akallopisos. **The Open Fish Science Journal**, v. 2, 55-58, 2009.

CASAS, L.; SABORIDO-REY, F.; RYU, T.; MICHELL, C.; RAVASI, T.; IRIGOIEN, X. Sex change in clownfish: molecular insights from transcriptome analysis. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, 1-19., 2016.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1992. 189 p.

CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; CANTELMO, O. A.; REGO, R. F. Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. Ed. Santa Maria: UFMS, 2010, p. 117-148.

CHEN, W.; GE, W. Gonad differentiation and puberty onset in the zebrafish: evidence for the dependence of puberty onset on body growth but not age in females. **Molecular reproduction and development**, v. 80, n. 5, 384-392, 2013.

COLE, K. S.; HOESE, D. F. Gonad Morphology, colony demography and evidence for hermaphroditism in *Gobiodon okinawae* (Teleostei, Gobiidae). **Environmental Biology of Fishes**, v. 61, 161–173, 2001.

CREPALDI, D. V. *et al.* Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, p.159-167, dez, 2006.

DE SIQUEIRA-SILVA, D. H.; RODRIGUES, M. S.; NÓBREGA, R. H. Testis structure, spermatogonial niche and Sertoli cell efficiency in Neotropical fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 273, 218-226, 2019.

DEVLIN, R. H.; 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, 2002.

DUFOUR, S.; WELTZIEN, F. A.; SEBERT, M. E.; LE BELLE, N.; VIDAL, B.; VERNIER, P.; PASQUALINI, C. Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1040, n. 1, 9-21, 2005.

DUSSENNE, M.; GENNOTTE, V.; ROUGEOT, C.; MÉLARD, C.; CORNIL, C. A. Consequences of temperature-induced sex reversal on hormones and brain in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Hormones and Behavior**, v. 121, 2020.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S. Sex determination in Neotropical fish: Implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment. **General and Comparative Endocrinology**, v. 273, p. 172-183, 2019.

- FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; ACOSTA, O. D. M.; STRUSSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. Environmental stress-induced testis differentiation: androgen as a by-product of cortisol inactivation. **General and Comparative Endocrinology**, v. 192, 36-44, 2013.
- FRETO, T. A. FREITAS, R. T. F.; SANTOS, V. B.; LOGATO, P. V. R.; VIVEIROS, A. T. M. Efeito do peso de abate nos redimentos do processamento da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*, VALENCIENNES, 1849). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, 2005.
- FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. **Catalog fishes, genera, species references**. California Academy of Sciences, Institute for Biodiversity Science and Sustainability, California. 2019. Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>>. Acesso em: 15 jan 2021.
- GARCIA, C.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Karyotypic evolution trends in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) with considerations about the origin and differentiation of its supernumerary chromosomes. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, 365-384, 2010.
- GANESH, C. B. The stress–Reproductive axis in fish: The involvement of functional neuroanatomical systems in the brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 112, 2021.
- GNEIDING, B.; BONOTTO, D. R.; GNEIDING, J. E. B. O.; LUCIOLI, J.; MADEIRA, H. M. F.; BALDAN, A. P. Bases neuroendócrinas do estresse e bem-estar em peixes teleósteos. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 17, n. 1-8, 2019.
- HILSDORF, A. W. S.; MOREIRA, R. G.; MARINS, LUIS F. Genética dos processos fisiológicos. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.; URBINATI, E. C. (Org.). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. 1 ed, Jaboticabal, SP: Fundação de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP), 2014, p. 39-57.
- HONJI, R. M.; MOREIRA, R. G. Controle neuroendócrino da ovogênese em peixes teleósteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 86-93, 2017.
- HONJI, R. M.; ARAÚJO, B. C.; MOREIRA, R. G. Fisiologia reprodutiva aplicada ao cultivo de peixes neotropicais. **Ciência animal**, v. 30, n. 4, 123-137, 2020.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI - Peixes. In: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, org. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. 1a ed. Brasília: ICMBio, 2018.
- ISHIKAWA, Y. Medakafish as a model system for vertebrate developmental genetics. **Bioessays**, v. 22, 487-495, 2000.

KIDA, B. M. S.; ABDALLA, R. P.; MOREIRA, R. G. Effects of acidic water, aluminum, and manganese on testicular steroidogenesis in *Astyanax altiparanae*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, 1347-1356, 2016.

KITANO, T. Endocrine and environmental control of sex differentiation in gonochoristic fish. In: **Reproductive and Developmental Strategies**. Tokyo: Springer, 2018. p. 307-319.

KONDO, M.; NANDA, I.; HORNUNG, U.; ASAKAWA, S.; SHIMIZU, N.; MITANI, SCHMID, M.; SHIMA, A.; SCHARTL, M. Absence of the candidate male sex-determining gene *dmrt1b* (Y) of medaka from other fish species. **Current Biology**, v. 13, n. 5, 416-420, 2003.

KUWAMURA, T.; SUNOBE, T.; SAKAI, Y.; KADOTA, T.; SAWADA, K. Hermaphroditism in fishes: na annotated list of species, phylogeny, and mating system. **Ichthyological Research**, v. 67, 341-360, 2020.

LEE, B. Y.; PENMAN, D. J.; KOCHER, T. D. Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. **Animal Genetics**, v. 34, n. 5, 379–383, 2003.

LI, M.; SUN, Y.; ZHAO, J.; SHI, H.; ZENG, S.; YE, K.; JIANG, D.; ZHOU, L.; SUN, L.; TAO, W.; NAGAHAMA, Y.; KOCHER, T. D.; WANG, D. A Tandem Duplicate of Anti-Mullerian Hormone with a Missense SNP on the Y Chromosome Is Essential for Male Sex Determination in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Plos Genet**, v. 11, n. 11, 1-15, 2015.

LIMA, F. C. T. A revision of the cis-andean species of the genus *Brycon* (Müller & Troschel) (Characiformes: Characidae). **Zootaxa**, v.1, 1–189, 2017.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Characiformes, Characidae, Bryconinae)**. 229 p. Tese de Doutorado – Univ. Federal de Viçosa, Brasil, 2006.

MANSEN, L. S.; ERNST, E. H.; BORUP, R.; LARSEN, A.; OLESEN, R. H.; ERNST, E.; ANDERSON, R. A.; KRISTENSEN, S. G.; ANDERSEN, C. Y. Temporal expression pattern of genes during the period of sex differentiation in human embryonic gonads. **Scientific Reports**, v. 7, 1-16, 2017.

MARGARIDO, V. P.; GALETTI-JUNIOR, P. M. Heterocromatin patterns and karyotype relationships within and between the genera *Brycon* and *Salminus* (Pisces, Characidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 3, 1999.

MARQUES, D. K.; VENERE, P. C.; GALETTI-JUNIOR, P. M. Chromosomal characterization of the bonytongue *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes: Arapaimidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 4, n. 2, 215-218, 2006.



MARTINEZ, P.; VIÑAS, A. M.; SÁNCHEZ, L.; DÍAZ, N. RIBAS, L.; PIFERRER, F. Genetic architecture of sex determination in fish: applications to sex ratio control in aquaculture. **Frontiers in Genetics**, v.5, n. 340, 1-14, 2014.

MATSUDA, M.; NAGAHAMA, Y.; SHINOMIYA, A.; SATO, T.; MATSUDA, C.; KOBAYASHI, T.; MORREY, C.E.; SHIBATA, N.; ASAKAWA, S.; SHIMIZU, N.; HORI, H.; HAMAGUCHI, S.; SAKAIZUMI, M. A Y-specific, DM-domain gene, DMY, is required for male development in the medaka (*Oryzias latipes*). London: **Nature**, v. 417, 559–563, 2002.

MATSUDA, M.; SAKAIZUMI, M. Sex determination. In: JAMIESON, B. G. M. (org). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony Fishes)**. 1 ed. New Hampshire: Science Publishers, 2009, p. 331-350.

MAZZONI, T. S.; GRIER, H. J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Germline cysts and the formation of the germinal epithelium during the female gonadal morphogenesis in *Cyprinus carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). **The Anatomical Record**, v. 293, n. 9, p. 1581-1606, 2010.

MAZZONI, T. S.; GRIER, H. J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Male gonadal differentiation and the Paedomorphic evolution of the testis in Teleostei. **The Anatomical Record**, v. 291, 1137-1162, 2014.

MAZZONI, T. S.; GRIER, H. J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Establishment in the Juvenile Hermaphroditism during gonadal differentiation of the *Gymnocorymbus ternetzi* (Teleostei: Characiformes: Characidae). **The Anatomical Record**, v. 298, 1984-2010, 2015.

MAZZONI, T. S.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Presence of the matrix metalloproteinases during the migration of the primordial germ cells in zebrafish gonadal ridge. **Cell and Tissue Research**, v. 383, n. 2, 707-722, 2021.

MEIJIDE, F. J.; LO NOSTRO, F.; 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, 191-210, 2005.

MITCHESON, Y. S.; LIU, M. Functional hermaphroditism in teleosts. **Fish and Fisheries**, v. 9, 1-43, 2008.

MOYES, C. D.; SCHULTE, P. M. **Principios de fisiología animal**, Porto Alegre: Artmed, 2ªed., 2010, 792 p.

MUÑOZ-CUETO, J. A.; PAULLADA-SALMERÓN, J. A.; ALIAGA-GUERRERO, M.; COWAN, M. E.; PARHAR, I. S.; UBUKA, T. A journey through the gonadotropin-inhibitory hormone system of fish. **Frontiers in endocrinology**, v. 8, p. 285, 2017.

NAKAMURA, M. KOBAYASHI, T.; CHANG, T.; NAGAHAMA, Y. Gonadal sex differentiation in teleost fish. **Journal of Experimental Zoology**, v. 281, n. 5, p. 362-372, 1998.

NASCIMENTO, R. V.; PINHEIRO, J. U.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. Alimentação de pós-larvas de teleósteos e sua importância na produção em cativeiro. **Ciência Animal**, v. 31, n. 1, 80-91, 2021.

NIVELLE, R.; GENNOTTE, V.; KALALA, E. J. K.; NGOC, N.B.; MULLER, M.; ME'LARD, C.; ROUGEOT, C. Temperature preference of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles induces spontaneous sex reversal. **Plos One**, v. 14, n. 3, 1-19, 2019.

ORTEGA-RECALDE, O.; DAY, R. C.; GEMMELL, N. J.; HORE, T. A. Zebrafish preserve global germline DNA methylation while sex-linked rDNA is amplified and demethylated during feminization. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2019.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**. Curitiba: Gr. Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2007. 313p.

PLA, S.; BENVENUTO, C.; CAPELLINI, I.; PIFERRER, F. Switches, stability and reversals: the evolutionary history of sexual systems in fish. **BioRxiv**, 2021. Disponível: <https://doi.org/10.1101/2021.01.25.428070>.

PONTES, M. F.; SOBRAL, V. R.; RAPOZO, B. R.; SOUZA, R. A.; XIRIANA, F. Avaliação do desempenho produtivo e econômico do cultivo de matrinxã (*Brycon amazonicus*) em sistema intensivo. **Anais do VI Fórum de Integração Ensino, Pesquisa, Extensão e Inovação Tecnológica do IFRR**, v. 4, n. 4, 2017.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese em peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista brasileira de reprodução animal**, p. 181-191, 2013.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, 2012.

RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Reprodução e embriogênese. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.; URBINATI, E. C. (Org.). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. 1ed, Jaboticabal, SP: Fundação de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP), 2014, p. 265-284.

SATO, Y.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; BOSCHI, M. B.; MIRANDA, M. O. T. Influence of Abaete River on the reproduction success of the neotropical migratory teleost *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream of the Três Marias dam, Southeastern Brazil. **River Research and Application**, v. 21, 2005.

SCHNEIDER, F.; POEHLAND, R. Endocrinology of reproduction. In: JAMIESON, B. G. M. (org). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony Fishes)**. 1 ed. New Hampshire: Science Publishers, 2009. p 54-93.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA-FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2017, 32p.

SINCLAIR, A. H.; BERTA, P.; PALMER, M. S.; HAWKINS, J. R.; GRIFFITHS, B. L.; SMITH, M. J.; FOSTER, J. W.; FRISCHAUF, A. M.; LOVELL, B. R.; GOODFELLOW, P. N. A gene from human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. London: **Nature**, v. 346, 240-244, 1990.

SOUTO, C. N.; FARIA, T. M.; OLIVEIRA, H. F.; ROSA, R. M.; SILVA, L. A. S.; CAMPOS, M. A. F. Visão geral sobre reprodução de peixes teleósteos: da anatomia à sinalização molecular. **Pubvet – Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 11, p. 1175-1187, 2017.

STREISINGER, G.; WALKER, C.; DOWER, N.; KNAUBER, D.; SINGER, F. Production of clones of homozygous diploid zebrafish (*Brachydanio rerio*). London: **Nature**, v. 291, 293–296, 1981.

STRÜSSMANN, C. A.; TAKASHIMA, F.; TODA, K. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v. 139, 31-45, 1996.

TAKAHASHI, H. Juvenile hermaphroditism in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Hokkaido University**, v. 28, n. 2, p. 57-65, 1977.

TAKEHANA, Y.; MATSUDA.; MYOSHO, T.; SUSTER, M. L.; KAWAKAMI, K.; SHIN-I, T.; KOHARA, Y.; KUROKI, Y.; TOYODA, A.; FUJIYAMA, A.; HAMAGUCHI, S.; SAKAIZUMI, M.; NARUSE, K. Co-option of Sox3 as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*. London: **Nature Communications**, v. 5, 1-10, 2014.

TAO, W.; CHEN, J.; TAN, D.; YANG, J.; SUN, L.; WEI, J.; CONTE, M. A.; KOCHER, T. D.; WANG, D. Transcriptome display during tilapia sex determination and differentiation as revealed by RNA-Seq analysis. **BMC Genomics**, v. 19, n. 363, 1-12, 2018.

TETREAU, G. R.; BENNETT, C. J.; SHIRES, K.; KNIGHT, B.; SERVOS, M. R.; MCMMASTER, M. E. Intersex and reproductive impairment of wild fish exposed to multiple municipal wastewater discharges. **Aquatic Toxicology**, v. 104, n. 5, 278–290, 2011.

TOKARZ, J.; MÖLLER, G.; DE ANGELIS, M. H.; ADAMSKI, J. Steroids in teleost fishes: a functional point of view. **Steroids**, v. 103, 123-144, 2015.

- TOLUSSI, C. E.; GOMES, A. D. O.; KUMAR, A.; RIBEIRO, C. S.; NOSTRO, F. L. L.; BAIN, P. A.; DE SOUZA, G. B.; CUÑA, R.; HONJI, R. M.; MOREIRA, R. G. Environmental pollution affects molecular and biochemical responses during gonadal maturation of *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, 926-934, 2018.
- TSUTSUI, K. A new key neurohormone controlling reproduction, gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH): Biosynthesis, mode of action and functional significance. **Progress in Neurobiology**, v. 88, n. 1, p. 76-88, 2009.
- UCHIDA, D.; YAMASHITA, M.; KITANO, T.; IGUCHI, T. Apoptosis during the transition from ovary-like tissue to testes during sex differentiation of juvenile zebrafish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 205, 711–718, 2002.
- UTSUNOMIA, R.; SCACCHETTI, P. C.; HERMIDA, M.; FERNÁNDEZ-CEBRIÁN, R.; TABOADA, X.; FERNÁNDEZ, C.; BEKAERT, M.; MENDES, N.J.; ROBLEDO, D.; MANK, J.E.; TAGGART, J.B.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; MARTÍNEZ, P. Evolution and conservation of *Characidium* sex chromosomes. **Heredity**, v.119, 2017.
- VALENTIN, F. N.; BATLOUNI, S. R.; NASCIMENTO, N. F.; SILVA, R. C.; MANZINI, B.; HILBIG, C. C.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L. S. Ovarian differentiation and development in cachara *Pseudoplatystoma fasciatum*. **Journal of Fish Biology**, v.89, 2016.
- VALENTIN, F.; NAKAGHI, L. S. O.; BATLOUNI, S. R.; NASCIMENTO, N.F.; PAES, M. C. F.; SILVA, R. C.; MANZINI, B.; CHAVARRO, S. Y. C.; ASSUNÇÃO, M. H. C. Testicular differentiation and development in South American catfish, surubim, *Pseudoplatystoma fasciatum*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 35, n. 2, p. 529-540, 2019.
- VAZ, M. M.; TORQUATO, V. C.; BARBOSA, N. D. C. 2000. **Guia ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande**. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC, 2000. 144p.
- VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Ed da UEM, 1996.
- VENERE, P.C.; FERREIRA, I.A.; MARTINS, C.; GALETTI JUNIOR, P.M. A novel ZZ/ZW sex chromosome system for the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae, Characiformes). **Genetica**, v.121, 2004.
- YAMAMOTO, T. O. Sex differentiation. **Fish Physiology**, v. 3, 117-175, 1969.
- ZAGO, S.; PAIVA, D. P. **Rio do Peixe: atlas da bacia hidrográfica**. Joaçaba: Unoesc; 2016. 136 p.
- ZALUSKI, A. B. **Investigação de mecanismos da determinação e da diferenciação sexual dependente de temperatura em zebrafish (*Danio rerio*) e em duas espécies de tartarugas marinhas (*Caretta caretta* e *Eretmochelys imbricata*)**. Dissertação. Programa de Pós-

graduação em Ecologia e Evolução da biodiversidade. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil, 2019.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 19, n. 2, 2006.

ZOHAR, Y.; MUÑOZ-CUETO, J. A.; ELIZUR, A.; KAH, O. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **General and comparative endocrinology**, v. 165, n. 3, 438-455, 2010.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

A piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, é uma espécie gonocorista, onde a diferenciação sexual ocorre inicialmente em fêmeas aos três meses de idade e em machos aos cinco meses de idade. Entretanto, parte das fêmeas, aos cinco meses de idade, iniciam um processo de inversão sexual, passam por um remodelamento gonadal originando indivíduos intersexos e, posteriormente, machos secundários, caracterizados por serem machos sexualmente ativos, contudo, ainda apresentarem oócitos primários residuais dispersos pelo epitélio germinativo masculino.

Embora a diferenciação sexual em *Brycon orbignyanus* possa ser quantificada temporalmente, esta característica não é mediada somente pela idade dos animais, mas também influenciada pelo crescimento e pela interação dos fatores fisiológicos dos espécimes. Assim, o andrógeno 11-cetotestosterona foi considerado o hormônio esteroide diretamente envolvida na inversão sexual ocorrida em fêmeas.

Além disso, machos primários e machos secundários de *Brycon orbignyanus* atingem maturidade sexual ao mesmo tempo, com um ano de idade, enquanto que as fêmeas somente atingiram maturidade sexual aos três anos de idade. Por fim, machos (primários e secundários) podem ser distinguidos das fêmeas por apresentarem como forma de característica sexual secundária o desenvolvimento de espículas na nadadeira anal.