

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” - UNESP**
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU-IBB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

LUCIANE GOMES DA SILVA

Resposta à exposição prolongada a altas temperaturas da
água na espermatogênese, qualidade seminal e
parâmetros biométricos de *Brycon orbignyanus*
(Bryconidae) em sistema de recirculação

BOTUCATU-SP

2024

LUCIANE GOMES DA SILVA

Resposta à exposição prolongada a altas temperaturas da
água na espermatogênese, qualidade seminal e
parâmetros biométricos de *Brycon orbignyanus*
(Bryconidae) em sistema de recirculação

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

Orientadora

Profa. Dra. Rosicleire Veríssimo
Silveira

BOTUCATU-SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Luciane Gomes da.

Resposta à exposição prolongada a altas temperaturas da água na espermatogênese, qualidade seminal e parâmetros biométricos de *Brycon orbignyanus* (Bryconidae) em sistema de recirculação / Luciane Gomes da Silva. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira
Capes: 33004064012P8

1. Peixes - Reprodução. 2. Estresse. 3. Análise do sêmen.
4. Teleósteos. 5. Mudanças climáticas.

Palavras-chave: Estresse; Qualidade seminal; Reprodução; Teleosteos; Temperatura.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE LUCIANE GOMES DA SILVA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 03 dias do mês de maio do ano de 2024, às 08:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de LUCIANE GOMES DA SILVA, intitulada **Resposta à exposição prolongada a altas temperaturas da água na espermatogênese, qualidade seminal e parâmetros biométricos de Brycon orbignyianus (Bryconidae) em sistema de recirculação**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira UNESP, Prof^a. Adjunta CARMINDA SANDRA BRITO SALMITO VANDERLEY (Participação Virtual) do(a) Centro de Ciências da Saúde / Universidade Estadual do Ceará - UECE, Pesquisador ADALBERTO LUIS VAL (Participação Virtual) do(a) Ministério de Ciência e TI / Instituto Nacional de Pesquisa na Amazônia-INPA / Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Adaptações da Biota Aquática da Amazônia - INCT/Adapta, Prof. Dr. JUAN FRANCISCO ASTURIANO NEMESIO (Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Departamento de Ciencia Animal / Institute for Animal Science and Technology (ICTA), Universitat Politècnica de València | UPV · UPV, Prof. Dr. ALEX PIRES DE OLIVEIRA NUÑER (Participação Virtual) do(a) Aquicultura / Universidade Federal de Santa Catarina. 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 a todas as alunas e alunos de pós-graduação, inegáveis contribuidores para progresso científico em nosso país. Cada um de vocês personifica a resiliência e o esforço incansável na busca pelo saber, enfrentando não apenas os desafios acadêmicos, mas também superando obstáculos financeiros. Àqueles que, muitas vezes, abdicam de momentos familiares e encaram a jornada mesmo sem "bolsas", vocês são verdadeiros protagonistas da ciência, desbravando caminhos mesmo diante das adversidades. Que este trabalho seja uma homenagem sincera a todos os estudantes de pós-graduação, que, com paixão e dedicação, moldam o futuro da pesquisa em nosso país.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas e instituições que contribuíram significativamente para a realização deste trabalho de pesquisa.

Em primeiro lugar, a Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, por todo apoio estrutural e acadêmico que foram fundamentais para viabilizar esta enriquecedora jornada acadêmica. Assim como, agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) da UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade proporcionada.

Assim como, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo suporte financeiro, por meio da concessão da bolsa. Agradeço também ao programa de mobilidade internacional da AUIP (Associação Universitária Ibero-Americana de Pós-Graduação), que me proporcionou a oportunidade única de realizar um intercâmbio na Espanha.

Expresso minha gratidão à Profa. Dra. Rosicleire Verissimo Silveira pela orientação ao longo desses quase oito anos. Sua sabedoria e dedicação foram fundamentais para minha formação acadêmica e desenvolvimento pessoal. A relação construída foi além do ambiente acadêmico, incentivando o pensamento crítico. A trajetória ao seu lado foi um privilégio e uma fonte constante de aprendizado.

Não poderia deixar de mencionar a importância do Professor Dr. Alexandre Ninhaus-Silveira, corresponsável junto à Professora Dra. Rosicleire Verissimo Silveira pelo LINEO (Laboratório de Ictiologia Neotropical). Sua dedicação, expertise e disposição para esclarecer dúvidas e oferecer orientações foram pilares fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Não poderia deixar de fazer uma menção especial a melhor equipe de trabalho, Laicia Leite, Stella Lobato, Patrícia P. Quirino, Maria Luiza Delgado, Luana Valcácio, Maiara Luzia Grigoli, Cristiane Benevente, e muitos outros que direta ou indiretamente estiveram comigo nesse desafio.

Gostaria de expressar meu agradecimento a Malbelys Padilla por abrir oportunidades para o intercâmbio e pela amizade e acolhimento durante minha estadia no exterior. Sua ajuda foi fundamental.

Desde a fase inicial da montagem do experimento vocês estiveram comigo, enfrentamos juntas as coletas que se estendiam por dias inteiros, as "indicações hormonais" nas madrugadas, em muitas vezes chuvosas. O comprometimento, a amizade e o espírito de equipe que cada uma trouxe para esses momentos tornaram essa jornada mais leve e memorável.

Em cada desafio, aprendizado e risada compartilhada, ficou claro que ninguém faz pesquisa sozinho. Agradeço a todas pela colaboração exemplar e pelo apoio constante ao longo desta jornada, que fez toda a diferença no sucesso deste trabalho.

Assim como, expresso aqui, minha sincera gratidão aos professores Dr. Juan Asturiano e Dra. Luz Perez por sua generosidade, orientação e contribuições valiosas que enriqueceram meu aprendizado. Minha experiência de intercâmbio na Universidade Politécnica de Valência, Espanha, foi um capítulo inestimável da minha trajetória acadêmica.

Este intercâmbio foi mais do que uma experiência acadêmica; foi uma jornada de autodescoberta e enriquecimento cultural. Sou grata pela oportunidade e pelas conexões significativas que moldaram meu caminho até este momento.

Desde 2017, tenho a honra de fazer parte do LINEO (Laboratório de Ictiologia Neotropical), e neste momento não poderia deixar de expressar sinceramente minha gratidão a

todos que passaram por este laboratório, desde alunos de iniciação científica até pós-doutores, pela incrível colaboração, apoio e conhecimento compartilhado. Cada um de vocês, com suas experiências e perspectivas únicas, deixou uma marca significativa em minha jornada acadêmica.

A Ricardo Hideo Mori (in memoriam), expresso minha sincera gratidão por seus ensinamentos sobre a arte da microtomia e pela importância de uma técnica precisa nos procedimentos histológicos.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton, responsável pelo Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos na Universidade de São Paulo (USP), pelo valioso auxílio nas análises de esteroides. Também estendo meu agradecimento à equipe de trabalho, especial à pós-doutoranda Giovana Branco, pelo valioso auxílio durante minhas atividades. Sua colaboração e expertise foram essenciais para o progresso e qualidade do trabalho realizado.

Ao Prof. Dr. Antônio Leão Castilho, expresso minha sincera gratidão por sua liderança notável como Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) e seu compromisso com a excelência acadêmica. Agradeço especialmente pelo auxílio valioso durante os trâmites para o intercâmbio. Sua orientação e suporte foram cruciais em todas as etapas. Sua disposição em ajudar e acreditar no potencial dos estudantes é verdadeiramente inspiradora.

Não posso deixar de reconhecer o esforço e a contribuição valiosa dos técnicos e servidores da UNESP, que desempenham um papel crucial nos bastidores, garantindo o bom funcionamento da instituição, em especial a Wilder Jordão (cuidando da "casinha" dos peixinhos), Elisangela Medeiros, Sidival Antunes, Antônio Torrogrosa Junior e Meiri Sayuri.

Aos amigos fora dos círculos acadêmicos, que, com sua presença, trouxeram leveza e equilíbrio à jornada. Katharine

Batista, Amanda Mattar, Laicia Leite, Maiara Grigoli, Stella Lobato, Viviane, Valdomiro Colavite, Lais Borges, Fábila Boguea, Barbara Bianchini, Giovana Branco, Maria Angelica Dutra, Pedro Maciel, Juliana Adono, Tainah Boian, Cristiane Benevente, entre tantos outros...

Cada um de vocês foi um farol em momentos desafiadores. A amizade de vocês não só tornou a caminhada mais tranquila, mas também proporcionou preciosas pausas do mundo acadêmico, enriquecendo minha vida de maneiras que as palavras têm dificuldade em expressar. Agradeço por compartilharem risos, conselhos e experiências que transcendem os corredores da pesquisa, tornando esta jornada mais rica e significativa.

Agradeço a todos que contribuíram, de alguma forma, para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento pessoal ao longo desses anos. Cada interação, desafio superado e lição aprendida moldaram a pesquisadora e a pessoa que me tornei.

À minha família, expresso minha profunda gratidão pelo apoio incondicional sendo meu alicerce durante toda a jornada acadêmica. Em especial, gostaria de agradecer aos meus irmãos, Silvana, Luciana, Cleo e Ivan, cujo suporte financeiro foi fundamental nos anos em que não tive bolsa, tanto no mestrado quanto no doutorado. O apoio de vocês permitiu que eu me dedicasse integralmente à pesquisa e aos estudos, e por isso, sou eternamente grata. Obrigado por serem meu porto seguro e por compartilharem comigo essa jornada repleta de desafios e conquistas.

Ao meu então namorado Romulo Rodrigues, a minha mais profunda gratidão por ser a âncora silenciosa nos bastidores de toda essa jornada. Seu apoio incansável, PACIÊNCIA e compreensão foram o alicerce que sustentou meus sonhos acadêmicos. Em cada desafio, você esteve ao meu lado,

oferecendo encorajamento, carinho e aquele olhar de confiança que iluminou até os dias mais sombrios.

Seja nos momentos de triunfo ou nas adversidades, sua presença significou mais do que palavras podem expressar. Obrigado por ser meu parceiro nesta jornada, por compartilhar a carga dos desafios e celebrar as vitórias. Você é o verdadeiro tesouro que enriqueceu minha vida e esta conquista é nossa. Obrigada por ser meu porto seguro. Agradeço também a família do Romulo, por acolher-me com carinho, especialmente Cida, minha sogra, e a Dona Ana e seu Zé (avós do Romulo), que são uns exemplos de carinho, amor e cumplicidade.

Por fim, agradeço a todos os pesquisadores dedicados que, incansavelmente, buscam elucidar as intrincadas questões relacionadas à reprodução de peixes. Agradeço não apenas pelos avanços na ciência, mas também pela inspiração que proporcionam àqueles que, como eu, buscam contribuir para um mundo mais sustentável. À medida que enfrentamos desafios globais, é reconfortante saber que há pesquisadores dedicados a desbravar novos horizontes e a repensar práticas em prol da conservação.

Que nossos esforços coletivos possam moldar um futuro em que a interação entre ciência e natureza seja harmoniosa e benéfica para todas as formas de vida. Que as descobertas e contribuições de cada um possam iluminar caminhos promissores para a preservação dos ecossistemas aquáticos e para a construção de um futuro mais equilibrado e consciente.

Gratidão por tudo.

SUMARIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
Cenário climático atual e Reprodução de peixes.....	14
Espermatogênese	15
REFERÊNCIA	23
CAPÍTULO I	31
Exposição Prolongada ao Estresse Térmico: Implicações na Reprodução e Parâmetros Zootécnicos em <i>Brycon orbignyanus</i> (Bryconidae)	31
INTRODUÇÃO	33
OBJETIVO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS	38
Parâmetros biométricos.....	39
RESULTADOS.....	42
Interação tempo e temperatura: crescimento (cm) e ganho de massa (g)	42
Indicadores Morfológicos	44
Análise tecidual: Morfologia testicular e espermatogênese.....	45
Taxa de esforço reprodutivo: Índice Gonadossomático (IGS)	50
DISCUSSÃO	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS.....	58
CAPÍTULO II	65
Efeitos da Alta Temperatura nas Características Seminais de <i>Brycon orbignyanus</i> (Characiformes: Bryconidae)	66
INTRODUÇÃO	68
MATERIAL E MÉTODOS	71
RESULTADOS.....	78
DISCUSSÃO	83
CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS.....	88

Resposta à exposição prolongada a altas temperaturas da água na espermatogênese, qualidade seminal e parâmetros biométricos de *Brycon orbignyanus* (Bryconidae) em sistema de recirculação

RESUMO GERAL

As mudanças climáticas têm um impacto profundo nos ecossistemas aquáticos, afetando diretamente a reprodução e o desenvolvimento de espécies aquáticas, incluindo peixes. A temperatura da água é um dos principais fatores ambientais que influenciam a fisiologia e o comportamento reprodutivo dos peixes, sendo crucial compreender como essas mudanças afetam a saúde reprodutiva das populações. O objetivo deste estudo foi analisar as alterações na espermatogênese, no índice gonadossomático, nos esteroides gonadais, no crescimento e ganho de massa de peixes expostos a duas temperaturas sob estresse crônico prolongado da espécie *Brycon orbignyanus*. Após 92 dias de exposição, observou-se um crescimento significativamente maior no grupo mantido a 27°C (grupo I) em comparação com o grupo mantido a 34°C (grupo II). Essa diferença no crescimento foi mantida ao longo do experimento, refletindo-se também no ganho de massa dos peixes. O grupo I apresentou um ganho de massa superior ao grupo II, indicando que a temperatura mais alta impactou negativamente o desenvolvimento dos peixes. Quanto ao desenvolvimento testicular, o grupo I mostrou uma maturidade sexual significativa após 273 dias de exposição, enquanto o grupo II apresentou uma transição rápida para fases de regressão e regeneração dos testículos. Esses resultados sugerem que a temperatura afetou a maturidade sexual dos peixes, interferindo diretamente na espermatogênese e na produção de espermatozoides. O IGS foi significativamente diferente entre os grupos, com o grupo I apresentando valores mais altos em comparação com o grupo II. Isso indica que a temperatura mais baixa favoreceu o desenvolvimento gonadal e a produção de gametas nos peixes, enquanto a temperatura mais alta teve um efeito negativo nesses processos. As análises seminais revelaram diferenças significativas entre os grupos em relação à qualidade seminal. O grupo II, exposto a 34°C, apresentou uma redução na concentração espermática e um aumento de danos na membrana espermática em comparação com o grupo I. A análise morfológica dos espermatozoides também mostrou deterioração significativa no grupo II, com mais danos primários e menos células normais. Os resultados deste estudo indicam que a temperatura da água tem um impacto direto na saúde reprodutiva dos peixes, afetando o crescimento, o desenvolvimento gonadal, a espermatogênese e a qualidade seminal. A temperatura mais alta resultou em efeitos adversos, incluindo uma diminuição na concentração espermática e danos nos espermatozoides. Esses achados são fundamentais para entender as consequências das mudanças climáticas na reprodução de peixes e para desenvolver estratégias de conservação eficazes diante desses desafios ambientais globais.

Palavras-chave: Characiformes. Mudanças climáticas. CASA. Reprodução. Histologia

Response to prolonged exposure to high water temperatures on spermatogenesis, seminal quality and biometric parameters of *Brycon orbignyanus* (Bryconidae) in a recirculating system

OVERVIEW

Climate change has a profound impact on aquatic ecosystems, directly affecting the reproduction and development of aquatic species, including fish. Water temperature is one of the main environmental factors that influence the physiology and reproductive behavior of fish, and it is crucial to understand how these changes affect the reproductive health of its populations. The aim of this study was to analyze changes in spermatogenesis, gonadosomatic index, gonadal steroids, growth and mass gain of fish exposed to two temperatures under prolonged chronic stress of the species *Brycon orbignyanus*. After 92 days of exposure, significantly greater growth was observed in the group kept at 27°C (group I) compared to the group kept at 34°C (group II). This difference in growth was maintained throughout the experiment, also reflecting on the mass gain of the fish. Group I showed a greater mass gain than group II, indicating that the higher temperature negatively impacted the development of the fish. Regarding testicular development, group I showed significant sexual maturity after 273 days of exposure, while group II showed a rapid transition to testicular regression and regeneration phases. These results suggest that temperature affected the sexual maturity of fish, directly interfering with spermatogenesis and sperm production. The IGS was significantly different between groups, with group I showing higher values compared to group II. This indicates that the lower temperature promoted gonadal development and gamete production in fish, while the higher temperature had a negative effect on these processes. Seminal analyzes revealed significant differences between groups in relation to seminal quality. Group II, exposed to 34°C, showed a reduction in Sperm concentration and an increase in damage to the sperm membrane compared to group I. Morphological analysis of spermatozoa also showed significant deterioration in group II, with more primary damage and fewer normal cells. The results of this study indicate that water temperature has a direct impact on the reproductive health of fish, affecting growth, gonadal development, spermatogenesis and seminal quality. The higher temperature resulted in adverse effects, including a decrease in sperm concentration and sperm damage. These findings are fundamental to understanding the consequences of climate change on fish reproduction and to developing effective conservation strategies in the face of these global environmental challenges.

Keywords: Characiformes. Climate changes. CASA. Reproduction. Histology

INTRODUÇÃO

Cenário climático atual e Reprodução de peixes

As mudanças climáticas, impulsionadas pelo aumento de 1,1°C na temperatura global, estão causando impactos significativos nos habitats de reprodução de peixes, conforme indicado pelo último relatório do Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC. Essa elevação das temperaturas, especialmente acima de 1,5°C, aumentará eventos extremos como secas, estresse térmico e inundações, representando uma ameaça inclusive às áreas de desova dos peixes (IPCC, 2023).

Aumentos na temperatura global, intensificam eventos climáticos extremos, incluindo padrões climáticos como El Niño e a La Niña exacerbando as condições secas e úmidas, e impactando negativamente os habitats de reprodução (OORT et al., 1996; CAPOTONDI et al., 2015; CAI et al., 2021). Alterações nesses eventos ocasionam modificações nos regimes de chuvas e no fluxo de águas, inclusive de rios, afetando consequentemente, rotas de migração dos peixes, reprodução, locais de desova, assim como o desenvolvimento larval (CAJADO et al., 2022).

A América do Sul, por estar localizada na região neotropical, é uma das áreas mais vulneráveis e suscetíveis aos impactos de eventos climáticos extremos (GRIMM, NATORI, 2006; HIROTA et al., 2011). A rica biodiversidade, a dependência de recursos naturais, a variabilidade climática natural e a fragilidade dos ecossistemas aquáticos são características que contribuem para a vulnerabilidade dessa região (CAMPOS et al., 2021; LEAL FILHO et al., 2022).

Com o impacto nos habitats de desova, a disponibilidade de alimentos para os peixes pode ser comprometida devido ao assoreamento ou degradação dos sítios de alimentação (PHANG et al., 2019; PELUSO et al., 2023). Esses sítios são essenciais para a manutenção dos organismos aquáticos, pois muitas espécies os utilizam não apenas para desova, mas também para proteção dos ovos e alevinos (GODOY, 1975; GODINHO, 2007; HILSDORF, MOREIRA, 2008; SILVA et al., 2012).

Portanto, mudanças nesses habitats podem ter impactos negativos na reprodução dos peixes (MIRANDA-CHUMACERO et al., 2020). As variações

abruptas na temperatura da água podem ter consequências que tendem a acelerar o metabolismo desses organismos (RIBEIRO, MOREIRA, 2012), resultando, por exemplo, em um aumento (IMSLAND et al., 2007; BESSON et al., 2016) ou redução na taxa de crescimento (PAUL et al., 2021; TESFAYE et al., 2023).

Se as temperaturas se tornarem muito altas ou flutuarem de maneira imprevisível, isso pode interferir nos ciclos reprodutivos de diversas espécies (SCHERER et al., 2023). Em resposta as mudanças nas condições ambientais, os peixes podem alterar seu comportamento reprodutivo (CAMPOS et al., 2018), nos padrões de migração e na época de reprodução (POSSAMAI et al., 2018).

Espermatogênese

A gametogênese, em teleósteos, assim como nos demais vertebrados, é um processo complexo, porém conservativo, conforme indicam diversos estudos (NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006; FAUSTINO et al., 2007; QUINTANEIRO et al., 2022; WEBER et al., 2023). Compreender o processo de formação gonadal, é essencial, tanto para a conservação, como para programas que envolvam produção de espécies com interesse comercial (VERÍSSIMO-SILVEIRA et al., 2006; LEAL et al., 2009; GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; BROW-PETERSON et al., 2011; SIQUEIRA-SILVA et al., 2013; MAZZONI et al., 2020; BHAT et al., 2021; QUIRINO et al., 2021; BREEDVELD et al., 2023).

Em muitos peixes, as células germinativas têm origem nas células germinativas primordiais (PGCs) e são segregadas da linhagem celular somática durante a embriogênese (GOTO-KAZETO et al., 2010; XU et al., 2010; SHIHAI et al., 2015), sendo as primeiras células-tronco da linhagem germinativa, e são estabelecidas durante o desenvolvimento embrionário (BINBIN, WEI, 2023). Durante o início da embriogênese, essas células passam por uma série de modificações, que envolvem migração (HOU et al., 2022; WANG et al., 2022; SHARMA et al., 2023), proliferação e diferenciação, formando um cordão contínuo com suporte de tecido conjuntivo (QUIRINO et al., 2021).

Após a migração para os futuros testículos, as PGCs se diferenciam em células chamadas espermatogônias, que são as células-tronco da espermatogênese (BRAAT et al., 1999; GOTO-KAZETO et al., 2010; GAMBLE,

ZORKOWER, 2012; HAI et al., 2014; NISHIMURA, TANAKA, 2014; GRIER et al., 2016; QUIRINO et al., 2021).

As agora espermatogônias irão proliferar e dar origem às demais células germinativas da linhagem (MAZZONI et al., 2014), por meio de uma cadeia de sintetização de hormônios, como a testosterona e a 11-KT (SCHULZ et al., 2010; ALIX et al., 2020). Com a proliferação celular, inicia-se a formação de túbulos seminíferos, onde ocorrerá a espermatogênese propriamente dita, isso para espécies que apresentam testículos do tipo tubular anastomosados (SIQUEIRA-SILVA et al., 2019; CORDEIRO et al., 2019; XIE et al., 2020).

As espermatogônias passam por sucessivas divisões mitóticas aumentando sua população (VAN, KIME 2003; NÓBREGA et al., 2009; GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; SCHULZ et al., 2010; SCAIA et al., 2020; BENEVENTE et al., 2022). Algumas das espermatogônias se diferenciam em espermatócitos primários, que são células diploides (GRIER et al., 1981; CORDEIRO et al., 2019; BENEVENTE et al., 2022). Esses espermatócitos passarão por meiose para formar espermatozoides haploides (Figura 01). Durante a meiose I, os espermatócitos primários sofrem redução do número de cromossomos pela metade, e diminuição do volume citoplasmático formando espermatócitos secundários (HONJI et al., 2020; ZHENG et al., 2023).

Os espermatócitos secundários completam a meiose, produzindo quatro espermátides haploides a partir de cada espermatócito primário (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2023). As espermátides, resultantes da meiose, são as menores células que permanecem em cistos (pequenas células esféricas), possuem um citoplasma escasso e são densamente coradas (HONJI et al., 2020), passam por uma série de transformações morfológicas para se tornarem espermatozoides maduros, sendo essa etapa denominada espermiogênese (SCHULZ et al., 2010, TANG et al., 2020).

A espermiogênese é a fase final da espermatogênese, durante a qual as células imaturas chamadas espermátides são transformadas em espermatozoides maduros e funcionais (NAGAHARNA et al., 2007; GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; SCHULZ et al., 2010; URIBE et al., 2014). O primeiro passo é a condensação do núcleo das espermátides (VERÍSSIMO-SILVEIRA et al., 2006; TANG et al., 2020). Isso envolve a compactação do

material genético, tornando-o mais densamente empacotado e capaz de ser facilmente transportado (HAO et al., 2019).

Uma estrutura chamada peça intermediária começa a se formar no polo oposto à cabeça do espermatozoide. Essa estrutura será responsável pela conexão entre a cabeça e o flagelo, permitindo a movimentação do espermatozoide (VERÍSSIMO-SILVEIRA et al., 2006; COSSON, 2019). Em seguimento, inicia-se o alongamento da cauda (flagelo), que por sua vez é a estrutura necessária para a locomoção/motilidade (VERÍSSIMO-SILVEIRA et al., 2006; KHOLODNYI et al., 2020).

Esse processo pode ocorrer de duas maneiras distintas: espermatogênese semicística e cística (MATTEI et al., 1993; SCHULZ et al., 2010). Na espermatogênese semicística, o desenvolvimento das espermatogônias e dos espermátócitos ocorre dentro de cistos formados pelas junções citoplasmáticas das células de Sertoli (HAI et al., 2014; ZHOU et al., 2019). Ao final da meiose II, os cistos se rompem, liberando as espermátides no lúmen do lóbulo, onde completam seu desenvolvimento (MATTEI et al., 1993).

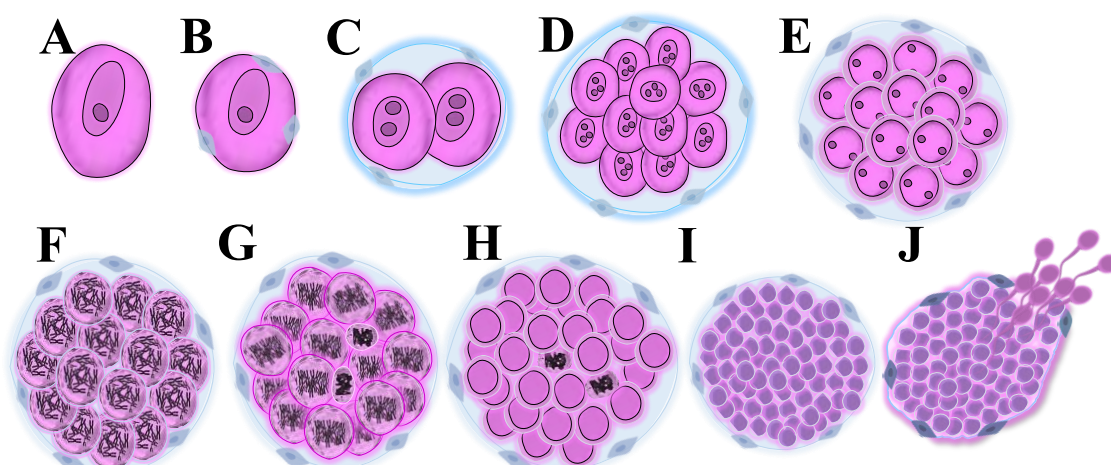
Por outro lado, na espermatogênese cística, todo o desenvolvimento das células germinativas acontece dentro de cistos formados por projeções citoplasmáticas da célula de Sertoli. Esses cistos são rompidos apenas no último estágio da espermátide, e as células germinativas dentro deles estão conectadas por pontes citoplasmáticas devido à citocinese incompleta durante as divisões celulares. Esse arranjo sincrônico torna o desenvolvimento celular simultâneo (GRIER et al., 1981, 2002; GRIER, URIBE-ARANZÁBAL, 2009; NÓBREGA et al., 2009; SCHULZ et al., 2010).

Diversos fatores atuam na regulação desse processo, como a temperatura da água e o fotoperíodo. Esses parâmetros desempenham um papel crucial no ciclo reprodutivo de peixes de modo geral, principalmente em espécies neotropicais (VAZZOLER, 1996; TARANGER et al., 2003; RIBEIRO, MOREIRA, 2012; PORTELLA et al., 2021).

No caso do fotoperíodo, a pineal é o órgão responsável às mudanças de luminosidade, atuando como um tradutor fotoendócrino complementando as funções do sistema sensoriais (MAITRA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2013; ALVES-GOMES, 2020; SADO et al., 2020). Essa glândula contém fotorreceptores extraoculares que funcionam como detectores de luminosidade,

gerando o ciclo circadiano, a síntese de prolactina, hormônio de crescimento, pigmentação, entre outras funções importantes (KORF, 2006).

Figura 01. Descrição geral simplificada da espermatogênese. A-D: espermatogônias indiferenciadas, indiferenciada*, diferenciada, espermatogônias tipo B; F-H: espermatócitos; I: espermátide; J: Espermátide com membrana rompida, liberando espermatozoides.



Quadro 01. Descrição macro e microscopia que caracterizam as fases do desenvolvimento testicular em peixes.

Fases de acordo com Brow-Peterson et al 2011 (machos-espermatogênese)		
Fase	Subfase	Características
Imaturo		Testículos pequenos, translúcidos e filiformes, possui somente espermatogônias indiferenciadas e nunca liberou espermatozoides.
Em desenvolvimento		Se inicia quando os testículos começam a crescer e se desenvolver. Os testículos são pequenos, com facilidade para serem identificados. Início da espermatogênese e formação dos espermatócitos. Presença de espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, espermátides iniciais e finais. Não contém espermatozoides no lúmen. O epitélio germinativo é contínuo por todo o testículo.
	Desenvolvimento inicial	Quando apenas espermatogônias e espermatócitos primários estão presentes.
Apto a reprodução		Testículos grandes, firmes e opacos. Espermatozoides presentes no lúmen dos túbulos seminíferos. Presença de todos os

		estágios da espermatogênese, epitélio germinativo descontínuo.
	Inicial	Epitélio contínuo ao longo de todo o testículo.
	Intermediária	Epitélio germinativo descontínuo nas proximidades do ducto espermático.
	Final	Epitélio germinativo descontínuo por todo o testículo.
Regressão		Testículos pequenos e flácidos, espermatozoides não liberados sob pressão. Presença de espermatozoides residuais no lúmen. Contendo espermátides não liberadas. Proliferação das espermatogônias e regeneração do epitélio germinativo tendo início.
Regeneração		Testículos pequenos e filiformes. Lúmen dos túbulos seminíferos não detectável ou discreto. Espermatogônias em proliferação por todo testículo. Ausência de espermatocistos. Espermatozoides residuais podem estar presentes no lúmen dos túbulos seminíferos e ducto espermático

Em caso de peixes que fazem migrações para a reprodução, por meio de gatilhos ambientais migram para áreas específicas de desova (Piracema). E após a época reprodutiva, os órgãos reprodutivos começam a regredir até o próximo ciclo reprodutivo, e os peixes retornam às suas áreas de alimentação ou de origem (HILSDORF, MOREIRA, 2008).

O comportamento de migração é característico de muitas espécies neotropicais, assim como o comportamento reprodutivo sazonal, ou seja, reproduzem-se em épocas específicas do ano, geralmente em resposta a mudanças sazonais nas condições ambientais (VAZZOLER 1996; GODINHO et al., 2010; DODSON et al., 2013; NISHIWAKI-OHKAWA, YOSHIMURA, 2016; GUH et al., 2019), como temperatura a fotoperíodo (HONJI et al., 2020; ALIX et al., 2020; VERÍSSIMO-SILVEIRA et al., 2023).

O aumento da duração da luz do dia pode desencadear a produção de hormônios reprodutivos, como o Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), que inicia o processo de maturação gonadal (NAVARRO, NAVARRO, 2012; VERAS et al., 2013; ALMEIDA, 2013).

Toda essa complexa rede é iniciada e regulada por uma cascata hormonal que desempenha um papel crucial na produção de gametas. Os principais hormônios envolvidos incluem: Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH); Hormônio Folículo Estimulante (FSH); Hormônio Luteinizante (LH); Testosterona; Hormônio Inibidor de Gonadotrofina (GnIH) e 11-cetotestosterona (11-Kt). O GnRH é secretado pelo hipotálamo e estimula a hipófise a liberar dois hormônios importantes, o LH e o FSH (ZOHAR et al., 2010; BHAT et al., 2021; LI et al., 2022).

O FSH age diretamente nos testículos, estimulando as espermatogônias a se dividirem e progredirem na espermatogênese. Assim como também promove a produção de receptores de LH nos testículos; o LH desempenha um papel crucial na maturação das células germinativas, estimulando as células de Leydig nos testículos a produzirem testosterona, um hormônio androgênico essencial para o desenvolvimento dos espermatozoides e a manutenção das características sexuais secundárias (SCHULZ et al., 2010; SIQUEIRA-SILVA et al., 2019).

No caso dos hormônios com ação parácrina (T e 11-Kt), agem localmente, afetando células próximas em vez de ser transportado pela corrente sanguínea (ZOHAR et al., 2010). A 11-KT é um hormônio esteroide que desempenha um papel importante na espermatogênese de peixes, sendo produzida nas células de Sertoli. Sua principal função é estimular a espermiogênese, a última fase da espermatogênese, na qual as espermatídes (células imaturas) se transformam em espermatozoides maduros e funcionais (SCHULZ, MIURA, 2002).

Entre as espécies de peixes migradoras, *Brycon orbignyanus*, também conhecido como "Piracanjuba", é uma espécie de peixe teleósteo nativa de rios e bacias hidrográficas da América do Sul, principalmente encontrada no Brasil, Argentina e Paraguai. Habita áreas de água doce, preferindo ambientes com correnteza, como rios e riachos. A espécie é conhecida por realizar migrações reprodutivas, semelhantes a outras espécies de peixes reofílicos neotropicais. É um peixe de tamanho médio a grande, com um corpo alongado e esguio. Sua coloração é prateada e brilhante, com nadadeiras geralmente amareladas. Podendo atingir até cerca de 60 centímetros de comprimento e pesar vários quilogramas (LIMA, 2017; OLIVEIRA et al., 2017) (Figura 01).

Figura 01. Esquema da distribuição da geográfica da espécies



Fonte: Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira/Strauss, 2022

A Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é frequentemente utilizada em programas de repovoamento de rios e lagos em várias regiões do Brasil. Pois, apresenta um significativo potencial econômico em várias áreas da aquicultura devido a carne de alta qualidade. Assim como também é alvo de pesca esportiva. Além do seu valor econômico, a Piracanjuba desempenha um papel importante nos ecossistemas aquáticos (LOPERA-BARRERO, 2009; OLIVEIRA, 2017).

No entanto, de acordo com a portaria do Ministério do Meio Ambiente de nº 148, de 7 de Junho de 2022, essa espécie atualmente está listada como criticamente ameaçada (ICMBio, 2022, 2023). Diante desse panorama, a problemática das mudanças climáticas tem impactos significativos nos peixes migradores da região neotropical e em seus habitats aquáticos. Embora o grau de extremos climáticos pode variar de região para região, e as mudanças climáticas não necessariamente significam que todos os lugares estão nos extremos climáticos, existem preocupações significativas em relação aos efeitos dessas alterações em relação a ictiofauna da região neotropical.

REFERÊNCIA

ALIX, M.; KJESBU, O. S.; ANDERSON, K. C. From Gametogenesis to Spawning: How Climate-driven Warming Affects Teleost Reproductive. **Biology Jornal Fish Biology**, v. 97, p. 607–632, 2020.

ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 174-180, 2013.

ALVES-GOMES, J.A. Evolution and physiology of electroreceptors and electric organs in Neotropical fish. **Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish**, p. 115-145, 2020.

BENEVENTE, C. F. P. QUIRINO, P.; GOMES-SILVA, L.; DELGADO, M. L. R.; BIANCHINI, B. C.; FREITAS, G. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Stereological analysis of spermatogenesis in *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae). **Aquaculture Research**, p. 1–7, 2022.

BESSON, M.; AUBIN, J.; KOMEN., H.; POELMAN, M.; QUILLET, E.; VANDEPUTTE, M.; VAN ARENDONK, J.A.M.; BOER, I.J.M. Environmental impacts of genetic improvement of growth rate and feed conversion ratio in fish farming under rearing density and nitrogen output limitations. **Journal of Cleaner Production**, v. 116, p. 100-109, 2016.

BHAT, I. A.; DAR, J. Y.; AHMAD, I.; MIR, I. N.; BHAT, H.; BHAT, R. A.; SHARMA, R. Testicular development and spermatogenesis in fish: Insights into molecular aspects and regulation of gene expression by different exogenous factors. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, p. 2142-2168, 2021.

BREEDVELD, M. C.; DEVIGILI, A.; BORGHERESI, OLIVIERO.; GASPARINI, C. Reproducing in hot water: Experimental heatwaves deteriorate multiple reproductive traits in a freshwater ectotherm. **Functional Ecology**, p. 37, p. 989–1004, 2023.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D.M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v. 3, p. 52–70, 2011.

CAI, W.; SANTOSO, A.; COLLINS, M.; DEWITTE, B.; KARAMPERIDOU, C.; KUG, J. S.; LENGAGNE, M.; MCPHADEN, M. J.; STUECKER, M. F.; TASCHETTO, A. S.; TIMMERMANN, A.; WU, L.; YEH, S.; WANG, G.; NG, B.; JIA, F.; YANG, Y.; YING, J.; ZHENG, X.; BAYR, T.; BROWN, J. R.; CAPOTONDI, A.; COBB, K. M.; GAN, B.; GENG, T.; HAM, Y.; JIN, F.; JO, H.; LI, X.; LIN, X.; MCGREGOR, S.; PARK, J.; STEIN, K.; YANG, K.; ZHANG, L.; ZHONG, W. Changing El Niño–Southern oscillation in a warming climate. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 2, n. 9, p. 628-644, 2021.

CAJADO, R. A.; OLIVEIRA, L. S.; SILVA, F. K. S.; ZACARDI, D. M.; ANDRADE, M. C. Effects of anomalous climatic events on the structure of fish larvae

assemblages in the Eastern Amazon. **Frontiers in Environmental Science**, v. 10, p. 1-15, 2022.

CAMPOS, D. F.; AMANAJÁS, R. D.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L. Climate vulnerability of South American freshwater fish: Thermal tolerance and acclimation. **Journal of Experimental Zoology, Ecologic and Interactive Physiology**, v. 335, p. 723–734, 2021.

CAMPOS, D. F.; VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. The influence of lifestyle and swimming behavior on metabolic rate and thermal tolerance of twelve Amazon forest stream fish species. **Journal of Thermal Biology**, v. 72, p.148–154, 2018. CAPOTONDI, A.; WITTENBERG, A. T.; NEWMAN, M.; DI LORENZO, E.; YU, J. Y., BRACONNOT, P.; YEH, S. W. Understanding ENSO diversity. **Bulletin of the American Meteorological Society**, v. 96, n. 6, p. 921-938, 2015.

CORDEIRO, J. G.; RODRIGUES, RODRIGUES, J. M. S.; BERTOLINI, R. M.; NÓBREGA R. H.; YASUI, G. S.; MAXIMINO, C.; SIQUEIRA-SILVA, D. H. Reproductive cycle of the tetra *Astyanax bimaculatus* (Characiformes: Characidae) collected in Amazonian streams. **Zygote**, v. 28, p. 37–44, 2019. **Developmental Biology**, v. 54, p. 1487-1492, 2010.

DODSON, J. J.; AUBIN-HORTH, N.; THÉRIAULT, V.; PAEZ, D. J. The evolutionary ecology of alternative migratory tactics in salmonid fishes. **Biological Reviews**, v. 88, p. 602-625, 2013.

FAUSTINO, F.; NAKAGHI, L. S. O.; MARQUES, C.; MAKINO, L. C.; SENHORINI, J. A. Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, p. 49-55, 2007.

GAMBLE, T.; ZARKOWER, D. Sex determination. **Current Biology**, v. 22, p. 57-62, 2012.

GODINHO, A. L.; LAMAS, I. R.; GODINHO, H. P. Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v. 87, p. 143–162, 2010.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 351-360, 2007.

GODOY, M. P.; Peixes do Brasil: Subordem Characoidei da Bacia do Rio Mogi Guassu, Piracicaba. **Editores Franciscana**, v. 2-4, 1975.

GOTO-KAZETO, R; SAITO, T; TAKAGI, M; ARAI, K; YAMAHA, E. Isolation of teleost primordial germ cells using flow cytometry. **The International Journal of GRIER, H. J.; BURNS, J. R.; FLORES, J. A. Testis Structure in Three Species of Teleosts with Tubular Gonopodia. Copeia: American Society of Ichthyologists and Herpetologists**, v. 4, p. 797-801, 1981.

GRIER, H. J.; URIBE, M. C.; LO NOSTRO, F. L.; MIMS, S. D.; PARENTI, L. R. Conserved Form and Function of the Germinal Epithelium Through 500 Million Years of Vertebrate Evolution. **Journal of Morphology**, v. 277, p. 1014-1044, 2016.

GRIER, H. J.; URIBE-ARANZÁBAL, M. C. The testis and spermatogenesis in teleost. In: Jamieson BGM (Ed.). Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Neoteleostomi). **Phylogeny Reproductive System Viviparity Spermatozoa**. Enfield: Science Publishers, p. 119-142, 2009.

GRIMM, A. M.; NATORI, A. A. Climate change and interannual variability of precipitation in South America. **Geophysical Research Letters**, v. 33, p. 1-5, 2006.

GUH, Y. J.; TAMAI, T. K.; YOSHIMURA, T. The underlying mechanisms of vertebrate seasonal reproduction. **Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences**, v. 95, p. 343-357, 2019.

HAI, Y.; HOU, J.; LIU, Y.; LIU, Y.; YANG, H.; LI, Z.; HE, Z. The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 29, p. 66–75, 2014.

HAO, S.L.; NI, F. D.; YANG, W. X. I. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. **Gene**, v. 706, p. 201–210, 2019.

HILSDORF, A. W. S.; MOREIRA, R. G. Piracema, por que os peixes migram? **Scientific American**, p. 76-80, 2008.

HIROTA, M.; OYAMA, M. D.; NOBRE, C. Concurrent climate impacts of tropical South America land-cover change. **Atmospheric Science Letters**, v. 12, p. 261-267, 2011.

HONJI, R. M.; ARAÚJO, B. C.; MOREIRA, R. G. Fisiologia reprodutiva aplicada ao cultivo de peixes neotropicais. **Ciência Animal**, v. 30, p. 23-137, 2020.

HOU, M.; FENG, K.; LUO, H.; JIANG, Y.; XU, W.; LI, Y.; SONG, Y.; CHEN, J.; TAO, B.; ZHU, Z.; HU, W. Complete Depletion of Primordial Germ Cells Results in Masculinization of *Monopterus albus*, a Protogynous Hermaphroditic Fish. **Marine Biotechnology**, v. 24, p. 320–334, 2022.

ICMBio, 2023. Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. Disponível em: <https://salve.icmbio.gov.br/>. Acesso em: 19 de nov. de 2023.

ICMBio. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria MMA nº148, Brasília, DF, 2022.

IMSLAND, A. K.; FOSS, A.; KOEDIJK, R.; FOLKVORD, A.; STEFANSSON, S. O.; JONASSEN, T. M. Persistent growth effects of temperature and photoperiod

in Atlantic cod *Gadus morhua*. **Journal of Fish Biology**, v. 71, p. 1371–1382, 2007.

IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, p. 3056.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. Rio de Janeiro, **Guanabara Koogan**, p.440, 1992.

KORF, H.M. The pineal organ. In: REINECKE, M.; ZACCONE, G.; KAPOOR, B.G. **Fish Endocrinology. Science Publishers**, v. 2, 2006.

LATLI, A.; DESCY, J.P.; MONDY, C. P.; FLOURY, M.; VIROUX, L.; OTJACQUES, W.; MARESCAUX, J.; DEPIEREUX, E.; OVIDIO, M.; USSEGLIO-POLATERA, P.; KESTEMONT, P. Long-term trends in trait structure of riverine communities facing predation risk increase and trophic resource decline. *Ecological Application*, v.27, p.2458-2474, 2017.

LEAL FILHO, W.; NAGY, G.J.; MARTINHO, F.; SAROAR, M.; ERACHE, M.G.; PRIMO, A.L.; PARDAL, M.A.; LI, C. Influences of Climate Change and Variability on Estuarine Ecosystems: An Impact Study in Selected European, South American and Asian Countries. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, p. 585, 2022.

LEAL, M. C.; CARDOSO, E. R.; NÓBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R.; BOGERD, J.; FRANÇA, L. R.; SCHULZ, R. W. Histological and Stereological Evaluation of Zebrafish (*Danio rerio*) Spermatogenesis with an Emphasis on Spermatogonial Generations. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 177–187, 2009.

LI, W.; DU, R.; XIA, C.; ZHANG, H.; XIE, Y.; GAO, X.; HU, G. Novel pituitary actions of GnRH in teleost: The between reproduction and feeding regulation. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 982297, 2022.

LIMA, F. C. T. A revision of the cis-andean species of the genus Brycon Müller & Troschel (Characiformes: Characidae). **Zootaxa**, v.4222, n. 1, p.1-189-1-189, 2017.

LOPERA-BARRERO, N. M. Conservation of Brycon orbignyanus natural populations and stocks for their reproductive, genetic, environmental sustainability: A model for species threatened with extinction. **Ciencia e investigación agraria**, v. 36, n. 2, p. 191-208, 2009.

MAITRA, S. K; CHATTORAJ, A; MUKHERJEE, S; MONIRUZZAMAN, M. Melatonin: A potent candidate in the regulation of fish oocyte growth and maturation. **General and Comparative Endocrinology**, p. 18, p. 215–222, 2013.

MATTEI, X.; SIAU, Y.; THIAW, O. T.; THIAM, D. Peculiarities in the organization of testis of Ophidian sp. (Pisces Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. **Jornal Fish Biology**, v. 43, p. 931–937, 1993.

MAZZONI, T. S.; BOMBARDELLI, R. A.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Reproductive Biology of Neotropical Fishes: A Guide to Identification to the Gonadal Morphology During the Reproductive Cycle of Catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae). **Aquatic Science and Technology**, v. 8, p. 15-35, 2020.

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. 297, p. 1137–1162, 2014.

MIRANDA-CHUMACERO, G.; MARIAC, C.; DUPONCHELLE, F.; PAINTER, L.; WALLACE, R.; COCHONNEAU, G.; MOLINA-RODRIGUEZ, J.; GARCIA-DAVILA, C.; RENNO, J. F. Threatened fish spawning area revealed by specific metabarcoding identification of eggs and larvae in the Beni River, upper Amazon. **Global Ecology and Conservation**, v. 24, p. 2351-9894, 2020.

NAGAHARNA, Y.; MIURA, T.; KOBAYASHI, T. The onset of spermatogenesis in fish. **Ciba Foundation symposium**, p. 255-270, 2007.

NAVARRO, F. K. S. P.; NAVARRO, R. D. Importância do fotoperíodo no crescimento e na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 2, p. 94-99, 2012.

NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; AZEVEDO, A. Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme; Prochilodontidae). **Zygote**, v. 14, p. 217–229, 2006.

NISHIWAKI-OHKAWA, T.; YOSHIMURA, T. Molecular basis for regulating seasonal reproduction in vertebrates. **Journal of Endocrinology**, v. 229, p. 117–127, 2016.

NÓBREGA, R.; BATLOUNI, S.; FRANÇA, L. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 197-206, 2009.

OLIVEIRA, D. J.; ASHIKAGA, F. Y.; FORESTI, F.; SENHORINI, J. A. Conservation status of the “piracanjuba” *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes, Bryconidae): basis for management programs. **Biodiversidade Brasileira**, v. 7, 18-33, 2017.

OORT, A. H.; YIENGER, J. J. Observed interannual variability in the Hadley circulation and its connection to ENSO. **Journal of Climate**, p. 2751-2767, 1996.

PAUL, N.; NOVAIS, S. C.; SILVA, C. S. E.; MENDES, S.; KUNZMANN, A.; LEMOS, M. F. L. Global warming overrides physiological anti-predatory

mechanisms in intertidal rock pool fish *Gobius paganellus*. **Science of the Total Environment**, v. 776, p. 145736, 2021.

PELUSO, L. M.; MATEUS, L.; PENHA, J.; SÚAREZ, Y.; LEMES, P. Climate change may reduce suitable habitat for freshwater fish in a tropical watershed. **Climatic Change**, v. 176, p. 44, 2023.

PHANG, S. C.; COOPERMAN, M.; LYNCH, A. J.; STEEL, E. A.; ELLIOTT, V.; MURCHIE, K. J.; COOKE, S. J.; DOWD, S.; COWX, I. G. Fishing for conservation of freshwater tropical fishes in the Anthropocene. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v.29, p.1039–1051, 2019.

PORTELLA, A. C.; ARSENTALES, A. D.; CAVALLARI, D. E.; SMITH, W. S. Efeito da sazonalidade na reprodução de peixes Characiformes em um rio Neotropical. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 111, p. 1-9, 2021.

POSSAMAI, B.; VIEIRA, J. P.; GRIMM, A.M.; GARCIA, A.M. Temporal variability QUINTANEIRO, C.; GAGLIARDI, M.; CAPONE, L.; DOMINGUES, I. (1997-2015) of trophic fish guilds and its relationships with El Niño events in a subtropical estuary. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 202, p. 145-154, 2018.

QUIRINO, P. P, RODRIGUES, M. S.; CABRAL, S.E.M., SIQUEIRA-SILVA, D. H., MORI, R. H., BUTZGE, A. J., NÓBREGA, R. H., Ninhaus-Silveira, A., & Veríssimo-Silveira, R. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 747– 755, 2021.

QUIRINO, P. P.; DELGADO, M. L. R.; GOMES-SILVA, L.; BENEVENTE, C. F.; GRIGOLI-OLIVIO, M. L.; BIANCHINI, B. C.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Female sex inversion as a reason for an unbalanced sex ratio in the neotropical species *Brycon orbignyanus*. **Aquaculture Research**. p. 1–21, 2021.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, v. 8, p. 58-61, 2012.

SADO, R. Y.; SOUZA, F. C.; BEHR, E. R.; MOCHA, P. R. E.; BALDISSEROTTO, B. **Anatomy of Teleosts and elasmobranchs**. In: *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, p. 21-47, 2020.

SCAIA, M. F.; CAVALLINO, L.; PANDOLFI, M. Social control of spermatogenesis and steroidogenesis in cichlid fish: a comparative approach. **Society for Reproduction and Fertility**, v. 159, p. 31-43, 2020.

SCHERER, L.; BOOM, H. A.; BARBAROSSA, V.; BODEGOM, P. M. Climate change threats to the global functional diversity of freshwater fish. **Global Change Biology**, v. 29, p. 3781–3793, 2023.

SCHULZ, R. W.; FRANÇA, L. R.; LAREYRE, J. J.; LEGAC, F.; CHIARINI-GARCIA, H.; NÓBREGA, R. H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 390–411, 2010.

SCHULZ, R. W.; MIURA, T. Spermatogenesis and its endocrine regulation. **Fish physiology and biochemistry**, v. 26, p. 43-56, 2002.

SHARMA, P.; PUROHIT, S.; KOTHIYAL, S.; BHATTACHARYA, I. Germ cell development in teleost gonads. **Aquaculture and Fisheries**, p. 1-15, 2023.

SILVA, P. A.; REYNALTE-TATAJE, D. A.; ZANIBONI-FILHO, E. Identification of fish nursery areas in a free tributary of a impoundment region, upper Uruguay River, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 10, p. 425-438, 2012.

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, p. 218-226, 2019.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Reproductive cycle of the Neotropical cichlid yellow peacock bass *Cichla kelberi*: A novel pattern of testicular development. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 3, p. 587-596, 2013.

TANG, D.; GAO, X., LIN, C.; FENG, B.; HOU, C.; ZHU, J.; WANG, J. Cytological features of spermatogenesis in *Opsariichthys bidens* (Teleostei, Cyprinidae). **Animal Reproduction Science**, v. 222, p. 106608, 2020.

TARANGER, G. L; VIKINGSTAD, E; KLENKE, U; MAYER, I; S. STEFANSSON, O; B. NORBERG, T. HANSEN, ZOHARY; ANDERSSON, E. Effects of photoperiod, temperature and GnRHa treatment on the reproductive physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 28, p. 403–406, 2003.

TESFAYE, M.; SOUZA, A.; T.; SOUKALOVÁ, K.; SMEJKAL, M.; HEJZLAR, J.; PRCHALOVÁ, M.; RÍHA, M.; MUSKA, M.; VASEK, M.; FROUZOVÁ, J.; BLABOLIL, P.; BOUKAL, D. S.; KUBECKA, J. somatic growth of pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in relation to variation in temperature and eutrophication in a Central Europe Lake. **Fisheries Research**, v. 267, p. 0165-7836, 2023.

URIBE, M. C.; GRIER, H. J.; MEJÍA-ROA, V. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. **Spermatogenesis**, v. 4, p. e983400-1, 2014.

VAN DER KRAAK, G.; CHANG, J.P.; JANZ, D.M. Reproduction. In: EVANS, D.H. The physiology of fishes. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, p.465-490, 1997.

VAN, L. K. J. W.; KIME, D. E. Automated sperm morphology analysis in fishes: the effect of mercury on goldfish sperm. **Jornal Fish Biology**, v. 63, p. 1020-1033, 2003.

VAZZOLER, A.E.A. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. EDUEM, Maringá, São Paulo. 169 p. **EDUEM**. 1996.

VERAS, G. C.; MURGAS, L. D. S.; ZANGERONIMO, M. G.; OLIVEIRA, M. M., ROSA, P. V.; FELIZARDO, V. O. Ritmos biológicos e fotoperíodo em peixes. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, p. 25-43, 2013.

VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; BRANCO, G. S.; QUIRINO, P. P.; SILVA, L. G.; CABRAL, E. M. S.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Ciclo Reprodutivo e Espermatogênese em Teleósteos Neotropicais. In: **IV International Meeting of Agrarian Science and Technology (IMAST), atualidades nas Ciências Agrárias: mudanças, tendências e impactos**, p. 188-202, 2023.

VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; GUSMÃO-POMPIANI, P.; VICENTINI, C. A.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Spermiogenesis and spermatozoa ultrastructure in *Salminus* and *Brycon*, two primitive genera in Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes). **Acta Zoologica** (Stockholm), v. 87, p. 305–313, 2006.

WANG, B.; YANG, F.; JIN, C.; HU, J.; QI, J.; ZHANG, Q. Migration of Primordial Germ Cells Is Regulated by miR-430 During Embryonic Development of Japanese Flounder. **Frontiers in Marine Science**, v. 9, p. 1-10, 2022.

WEBER, V.; GODOY, R. S.; HOFFMANN, P. H. O.; LANÉS, L. E. K.; VOLCAN, M.; MALTCHIK, L. A preliminary approach to embryonic development of *Austrolebias wolterstorffi*, an endangered neotropical annual fish species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. 1-10, 2023.

XIE, X.; NÓBREGA, R.; PŠENICKA, M. Spermatogonial Stem Cells in Fish: Characterization, Isolation, Enrichment, and Recent Advances of In Vitro Culture Systems. **Biomolecules**, v. 10, p. 644, 2020.

ZHENG, X.; WANG, J., GAO, X.; DU, C.; HOU, C.; XIE, Q.; LOU, B. Testis Development and Ultrastructural Features During Spermatogenesis in Cultured Small Yellow Croaker, *Larimichthys polyactis*. **Journal of Ocean University of China**, v. 22, p. 1412-1426, 2023.

ZHOU, R; WU, J; LIU, B; JIANG, Y; CHEN, W; LI, J; HE, Q; HE, Z. The roles and mechanisms of Leydig cells and myoid cells in regulating spermatogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, p. 1-15, 2019.

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

CAPÍTULO I

Exposição Prolongada ao Estresse Térmico: Implicações na Reprodução e Parâmetros Zootécnicos em *Brycon orbignyanus* (Bryconidae)

**Exposição Prolongada ao Estresse Térmico: Implicações na
Reprodução e Parâmetros Zootécnicos em *Brycon orbignyanus*
(Bryconidae)**

RESUMO

As mudanças climáticas afetam os padrões de reprodução dos peixes, com implicações na espermatogênese e no crescimento. Essas mudanças, evidenciadas por estudos recentes, impactam significativamente a fertilização, o metabolismo e o comportamento dos peixes. O aumento da temperatura da água afeta diretamente a espermatogênese em diversas espécies, incluindo *Brycon orbignyanus*, destacada pela sua importância na conservação e na aquicultura. Avaliar esses processos é crucial para a implementação de estratégias eficazes de conservação e manejo diante dos desafios impostos pelas mudanças ambientais globais. Com isso, estudo objetivou analisar alterações na espermatogênese, índice gonadosomático, esteroides gonadais, crescimento e ganho de massa, de peixes expostos a duas temperaturas sob estresse crônico prolongado. O estudo foi realizado no Laboratório de Ictiologia Neotropical - LINEO/UNESP - Ilha Solteira, SP. 400 exemplares de *B. orbignyanus* com um ano de idade foram distribuídos em dois sistemas de recirculação (n= 200 por tanque) de 4.500 litros (Grupos I e II - 27°C e 34°C, respectivamente). Cinco animais de cada grupo foram eutanasiados mensalmente, considerando o período de reprodução da espécie (08 coletas), por um período de exposição de 395 dias, seus tecidos foram utilizados para análises histológicas. Paralelo a isso, vinte peixes de cada grupo foram avaliados biometricamente, mensalmente por um período de 638 dias. Os dados foram analisados estatisticamente para avaliar o efeito das temperaturas na saúde e desenvolvimento dos peixes. O experimento seguiu as diretrizes éticas da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP, protocolo CEUA-FEIS/UNESP 10/2020. Após 92 dias, diferenças estatísticas significativas foram observadas entre os grupos I (27°C) e II (34°C) em relação ao crescimento dos peixes, com o grupo I apresentando um crescimento médio de 12,12% e o grupo II de 6,01%. Após 334 dias, o ganho de massa também mostrou diferenças estatísticas, sendo 155,80% no grupo I e 77,92% no grupo II. Ao final do experimento (638 dias), o grupo I teve um ganho de 432,4%, enquanto o grupo II apresentou 220,7%. A análise de correlação mostrou que 84,50% da variação no crescimento do grupo I e 50,98% do grupo II foram explicadas pela temperatura. Quanto ao desenvolvimento testicular, o grupo I mostrou maturidade sexual significativa após 273 dias, enquanto o grupo II apresentou uma transição rápida para fases de regressão e regeneração. Esses resultados indicam que a temperatura afetou o crescimento, ganho de massa e desenvolvimento gonadal dos peixes, com implicações significativas na maturidade sexual e saúde reprodutiva.

Palavras-chave: Mudanças climáticas. Espermatogênese. Temperatura. Crescimento. Saúde reprodutiva

**Prolonged Exposure to Thermal Stress: Implications for
Reproduction and Zootechnical Parameters in *Brycon orbignyanus*
(Bryconidae) Under the Context of Climate Change**

ABSTRACT

Climate change affects fish reproduction patterns, with implications for spermatogenesis and growth. These changes, evidenced by recent studies, significantly impact fish fertilization, metabolism and behavior. Increased water temperature directly affects spermatogenesis in several species, including *Brycon orbignyanus*, highlighted by its importance in conservation and aquaculture. Evaluating these processes is crucial for implementing effective conservation and management strategies in the face of the challenges enforced by global environmental changes. Therefore, the study aimed to analyze changes in spermatogenesis, gonadosomatic index, gonadal steroids, growth and mass gain, in fish exposed to two temperatures under prolonged chronic stress. The study was carried out at the Neotropical Ichthyology Laboratory - LINEO/UNESP – Ilha Solteira, SP. 400 one-year-old *B. orbignyanus* specimens were distributed in two recirculation systems (n= 200 per tank) of 4,500 liters (Groups I and II - 27°C and 34°C, respectively). Five animals from each group were euthanized monthly, considering the reproduction period of the species (08 collections), for an exposure period of 395 days, their tissues were used for histological analysis. Parallel to this, twenty fish from each group were biometrically evaluated, monthly for a period of 638 days. The data was statistically analyzed to evaluate the effect of temperatures on fish health and development. The experiment followed the ethical guidelines of the Ethics Committee on the Use of Animals of the Faculty of Engineering of Ilha Solteira, UNESP, protocol CEUA-FEIS/UNESP 10/2020. After 92 days, significant statistical differences were observed between groups I (27°C) and II (34°C) in relation to fish growth, with group I showing an average growth of 12.12% and group II of 6.01%. After 334 days, mass gain also showed statistical differences, being 155.80% in group I and 77.92% in group II. At the end of the experiment (638 days), group I had a gain of 432.4%, while group II showed 220.7%. Correlation analysis showed that 84.50% of the variation in growth in group I and 50.98% in group II were explained by temperature. Regarding testicular development, group I showed significant sexual maturity after 273 days, while group II showed a rapid transition to regression and regeneration phases. These results indicate that temperature affected the growth, mass gain and gonadal development of fish, with significant implications for sexual maturity and reproductive health.

Keywords: Climate change. Spermatogenesis. Temperature. Growth. Reproductive Health.

INTRODUÇÃO

Considerando a crescente preocupação com as mudanças climáticas e os potenciais impactos nas comunidades aquáticas (IPCC 2022), torna-se relevante explorar o impacto dessas alterações nos padrões de reprodução dos peixes (ALIX et al., 2020; BUTZGE et al., 2021; CAJADO et al., 2022; MORGAN et al., 2022; VAL, WOOD, 2022; REIS et al. 2023). Além disso, a demanda por proteínas de origem animal saudáveis a exemplo dos peixes tem contribuído para o notável aumento na produção nas últimas 5 décadas, com um consumo per capita crescendo em média cerca de 1,5% ao ano (FAO, 2020).

É também digno de nota que do total anual da produção aquícola global de 82 milhões de toneladas, ou seja, dois terços envolvem a produção de peixe em instalações terrestres ou marinhas, tornando a piscicultura o sector da aquicultura mais importante (FAO, 2020). No entanto produção de organismos aquáticos em sistemas tradicionais de aquicultura enfrenta diversos desafios, como destruição e modificação de habitats naturais (PAIVA et al., 2008), escapes de espécies não nativas (BELLAY et al., 2016), demanda de água (ITUASSÚ, SPERA 2018), disponibilidade de oxigênio dissolvido (CARVALHO-FREITAS et al., 2013), e alterações na temperatura da água (CARA et al., 2013; REBOUÇAS et al., 2014).

Dentre os fatores abióticos envolvidos diretamente no processo reprodutivo de peixes, a temperatura da água atua como gatilho da reprodução (SIQUEIRA-SILVA et al., 2019; ALIX et al., 2020), influenciando desde as fases iniciais de formação de gametas (QUIRINO et al., 2021; REIS et al., 2023); desenvolvimento embrionário (ARENZON et al., 2002; DE ALEXANDRE et al., 2010; LEMOS et al., 2014; OLIVEIRA-ALMEIDA et al., 2014; LOPES et al., 2018; BUTZGE et al., 2021), assim como nos parâmetros zootécnicos (PIEDRAS et al., 2014; MAZUMDER et al., 2016; WATSON et al., 2022).

Estudos recentes evidenciam que eventos de temperatura extrema prejudicam significativamente o tempo de fertilização (PINHEIRO et al., 2021), o crescimento (ILHA et al., 2018; MAZUMBER et al., 2024), a reprodução (YAMAMOTO et al., 2024), o metabolismo, a fisiologia (KUMAR et al., 2024), assim como o comportamento e sobrevivência dos peixes (ISLAM et al., 2021). As taxas de crescimento uma vez comprometidas, podem implicar em uma série

de alterações, como a dinâmica de ganho muscular (PRÖTNER, 2002, MAZUMBER et al., 2024), e idade da primeira maturação (BUTZGE et al., 2021; ÁRNASON et al., 2022).

A reprodução de peixes é um processo essencial para a perpetuação das espécies e desempenha um papel fundamental na manutenção dos ecossistemas aquáticos (FALCÓN et al., 2010). No entanto, as alterações climáticas globais têm influência nos sistemas naturais, incluindo os ambientes aquáticos. As mudanças nas condições ambientais, como temperatura da água, disponibilidade de alimentos e qualidade da água, podem afetar diretamente a reprodução dos peixes (SERVILI et al., 2020).

Alterações em padrões dos graus das temperaturas, podem ocasionar mudanças significativamente preocupantes em relação aos peixes neotropicais (CAJADO et al., 2022). Estudos em ambientes controlados demonstraram que o aumento da temperatura da água, afeta a espermatogênese em *Astyanax lacustris* (SIQUEIRA-SILVA et al. 2015; QUIRINO et al., 2021), *Brycon orbignyanus* (ZARDO et al., 2021; CARVALHO et al., 2022). Consequentemente afetando a produção e a qualidade dos espermatozoides (ALIX et al., 2020).

A espermatogênese é o processo de formação dos espermatozoides a partir das células germinativas primordiais (MAZZONI et al., 2014; QUIRINO et al., 2021). Durante esse processo, as espermatogônias sofrem várias divisões celulares para produzir espermátócitos, que subsequentemente passam pela meiose, originada na formação de espermatozoides maduros (GRIER, URIBE-ARANZÁBAL 2009; LEAL et al., 2009; BENEVENTE et al., 2022).

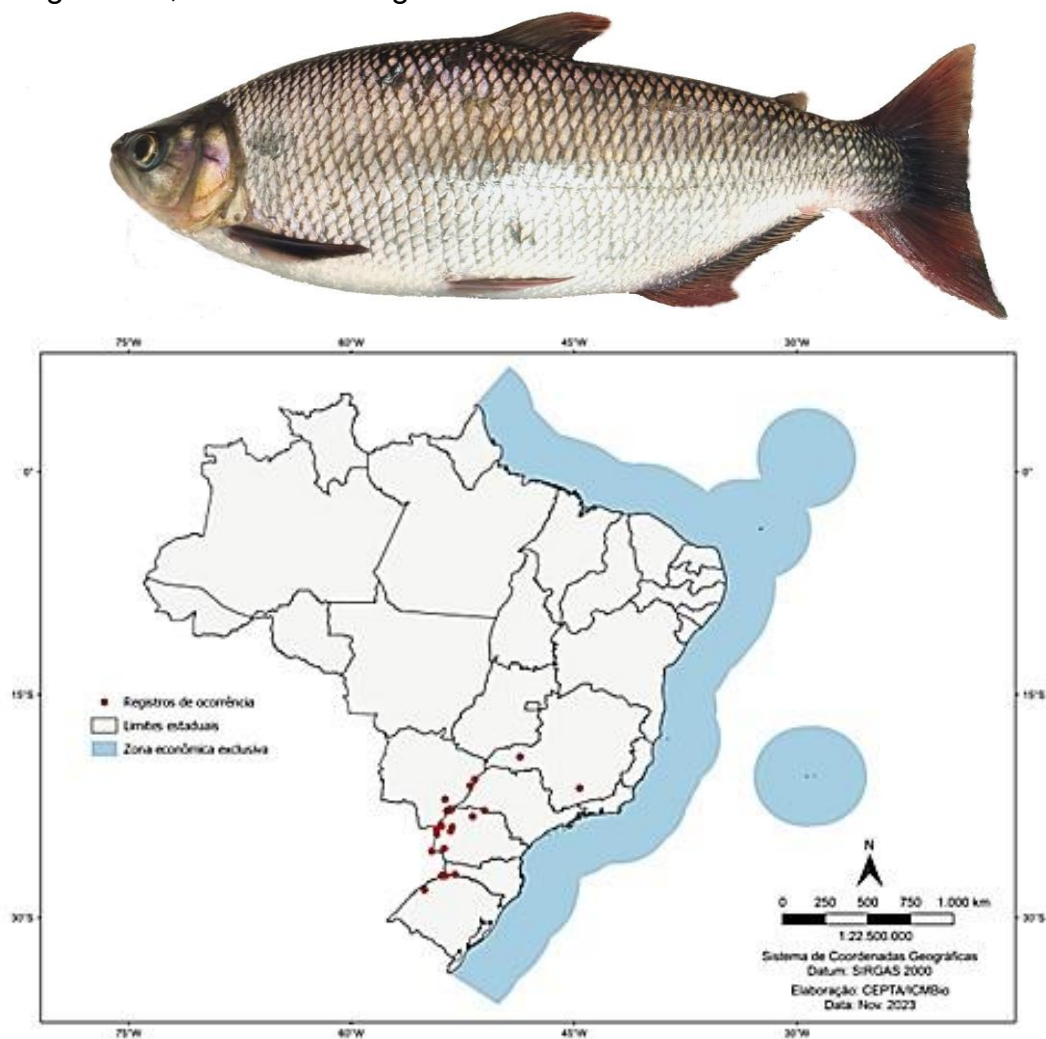
Como modelo experimental para a presente pesquisa, a espécie foi escolhida devido a sua adaptabilidade, relevância econômica, importância na conservação e seu papel em ecossistemas aquáticos (OLIVEIRA et al., 2017). A espécie é conhecida popularmente como "Piracanjuba", é uma espécie de peixe neotropical pertencente à família Bryconidae (OLIVEIRA et al., 2011). Atualmente, a Piracanjuba possui o status de conservação como criticamente ameaçada de acordo com a portaria ICMbio Nº 170, de 17 de janeiro de 2024 (BURBANO et al., 2024).

Aumentando assim, a importância de estudos que visam compreender e melhorar sua conservação e manejo. Além do seu ciclo reprodutivo distinto e comportamento alimentar a tornam uma espécie atraente para estudos em

várias áreas da biologia, ecologia e aquicultura (LOPERA-BARRERO et al., 2009, LOPERA-BARRERO et al., 2019). É uma das espécies de peixes de água doce mais emblemáticas e economicamente importantes da América do Sul (CASTAGNOLLI 1992; PARANANI-ANTUNES et al., 2011; TONELLA et al., 2019).

A Piracanjuba é uma espécie de tamanho médio a grande, podendo atingir até cerca de 60 centímetros de comprimento quando adulta. Tem um corpo alongado e esguio, típico dos peixes do gênero *Brycon*. Habita rios e bacias hidrográficas da América do Sul, incluindo Brasil, Argentina e Paraguai. Prefere ambientes de água doce com correnteza moderada (LIMA, 2017) (Figura 01).

Figura 01. Visão ictiogeográfica da distribuição e ocorrência da espécie *Brycon orbignyanus* em território nacional. Estados - Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina; Biomas - Cerrado, Mata Atlântica; Bacias Hidrográficas - Sub-bacia Grande, Sub-bacia Iguaçu, Sub-bacia Parapanema, Sub-bacia Paranaíba, Sub-bacia Paraná RH1, Sub-bacia Uruguai Alto, Sub-bacia Uruguai Médio.



Fonte: Burbano et al., 2024 (mapa)

Diante do exposto, tem-se a necessidade de estudos voltados para a compreensão dos efeitos da exposição a longo prazo na reprodução dos peixes, especialmente no que diz respeito à espermatogênese nessa espécie, é de extrema importância para a conservação e o manejo adequado. A avaliação desses parâmetros pode fornecer informações valiosas sobre o estado reprodutivo das espécies, auxiliando na implementação de estratégias de conservação e no monitoramento da saúde reprodutiva dos peixes em um cenário de mudanças climáticas.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo, expor dois grupos de peixes (*Brycon orbignyanus*) a duas temperaturas, grupo I (27°C) e grupo II (34°C), por 638 dias em sistema de tanques suspensos de recirculação, descrever alterações morfoestruturais nos testículos, descrever possíveis alterações durante o processo de formação dos gametas (espermatogênese), e no índice gonadosossômico, além de avaliar possíveis alterações no perfil dos esteroides gonadais, assim como verificar parâmetros de interesse zootécnico como crescimento (cm) e ganho de massa (g).

OBJETIVOS ESPÉCIFICOS

Avaliar com a interação tempo e temperatura influenciam nos seguintes pontos;

- Relação peso-comprimento;
- Fator de condição (K);
- Espermatogênese;
- Perfil de esteroides (Testosterona, 11-Cetotestosterona)

Correlacionar os resultados com os cenários climáticos, contribuindo para a compreensão dos efeitos na reprodução e produção de espécies neotropicais.

MATERIAL E MÉTODOS

Implementação do experimento e cuidados gerais

Considerando o período reprodutivo da espécie em estudo, em novembro de 2020, quatrocentos juvenis de *Brycon orbignyanus*, com idade de um ano, tiveram suas massas corporal (g) e comprimento (cm), aferidos e separados em dois lotes com N=200. Todo o experimento foi realizado na estufa de Experimentação do Laboratório de Ictiologia Neotropical – LINEO/UNESP – Ilha Solteira, SP.

Cada lote de peixe foi distribuído em dois sistemas de recirculação de 4.500L. Os sistemas foram nomeados com grupo I, onde a temperatura média foi mantida em $27^{\circ}\text{C} \pm 2.0$, e grupo II, onde a temperatura foi mantida em $34^{\circ}\text{C} \pm 2.5$ (Figura 02). Com a aferição dos parâmetros biométricos, os peixes dos respectivos grupos (I e II) apresentaram as seguintes médias: $182,33 \pm 36.70$ (g) em relação massa (g), e comprimento de 24.55 ± 2.66 (cm), respectivamente.

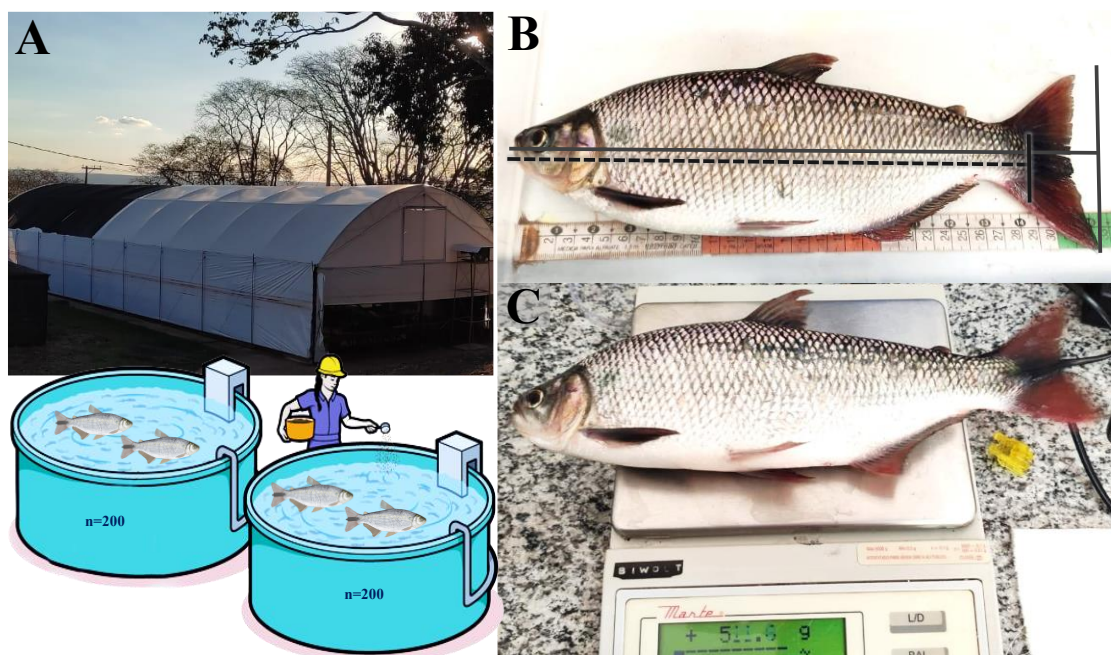
Os peixes tanto do grupo I, como do grupo II até o primeiro ano de vida, foram alimentados diariamente em dois períodos com ração comercial (32% de proteína bruta), em uma proporção de 3% kg/massa (g) peixe, e após o primeiro ano a proporção por massa passou a ser de 1%. Em relação aos parâmetros de qualidade de água, a temperatura e pH, foram monitoradas diariamente, para não ocorrer alterações nas temperaturas determinadas. Os demais parâmetros como, amônia (NH_3) e oxigênio dissolvido (OD), aferidos duas vezes por semana.

Para aferimento e controle dos parâmetros de qualidade de água, foram utilizados aquecedores com potência de 5500W, acoplados ao sistema de retorno de água no tanque de recirculação. Para o resfriamento foi usado Chiller com potência de 750w. Ambos os sistemas, foram acoplados com termostatos para controle tanto dos aquecedores, como dos resfriadores. Além disso, com o uso de termômetro, pHmetro, kits de controle de amônia (NH_3), e oxigênio dissolvido (OD), os parâmetros foram determinados e planilhados para posterior determinação das médias.

As temperaturas tanto do grupo I, como do grupo II foram aferidas diariamente em dois períodos, início da manhã e fim da tarde, para em seguida

ser calculada a média diária e consequente mensal, apresentando durante o período experimental uma média de $27,32 \pm 3,0$ °C para o grupo I e $34,04 \pm 2,0$ °C para o grupo II. Os demais parâmetros de qualidade de água foram aferidos a cada dois dias e apresentaram as seguintes médias respectivamente para cada grupo: pH $7,4 \pm 0,41$ e $7,52 \pm 0,46$; Oxigênio dissolvido (OD) de $5 \pm 1,06$ ppm e $5,25 \pm 1,48$ ppm; Amônia tóxica (NH₃) de $0,022 \pm 0,010$ ppm e $0,025 \pm 0,019$ ppm. A manutenção sanitária dos tanques feita a cada sete dias, com troca aproximadamente 30% da água, e eliminação da matéria orgânica resultante da alimentação, presentes nos decantadores.

Figura 03. Local de execução do experimento, e esquema da separação dos peixes por grupos I e grupo II e biometria. Estufa de experimentação e esquema de tanques suspensos - A; Procedimentos biométricos realizados durante o período experimental - B e C. Linha preta: Demonstração do comprimento padrão; Linha acinzentada: Demonstração do comprimento total.



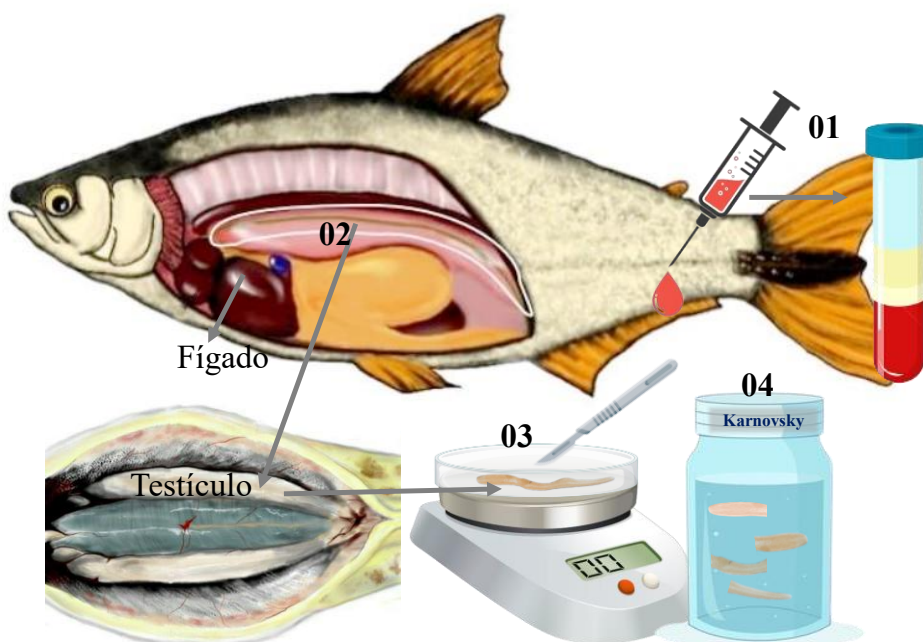
Parâmetros biométricos

Para determinar a taxa de crescimento, ganho de massa, assim como para ajustar a alimentação oferecida, a cada trinta dias vinte animais de cada grupo foram capturados aleatoriamente, e com auxílio de balança e ictiômetro seus parâmetros foram mensurados. Todos os procedimentos foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Faculdade de

Coleta tecidual

Para a coleta dos tecidos, cinco peixes de cada grupo (I=27°C e II= 34°C) foram separados e eutanasiado com solução de benzocaína (2/10 mg/ml) dissolvida em 20L de água. Em sequência, por punção venosa o sangue foi coletado com auxílio de seringa heparinizada, transferidos para tubos de ensaio contendo EDTA K2, para evitar coagulação, em seguida as amostras foram colocadas em centrífuga a 3,500 RPM por 25 minutos, o plasma retirado com auxílio de micropipeta e envasados em microtubos (três réplicas), e mantidas em ultra freezer -80 °C para posterior análises dos esteroides envolvidos na maturação gonadais (Figura 04).

Figura. 04: Ilustração do procedimento cirúrgico para coleta tecidual em *Brycon orbignyanus*. 01. Punção venosa para extração do plasma sanguíneo; 02. Ilustração da posição dos órgãos na cavidade celomática; 03. Disseção e aferição de massa (g). 04. Ilustração da solução fixadora e proporção do líquido em relação ao órgão fixado.



Fonte: Autora (com modificações), Benevente, 2022 (ilustração peixe).

Após a punção venosa, por meio de uma incisão celomática no sentido caudal-cranial as gônadas e o fígado foram dissecados, e as respectivas massas foram aferidas, para posterior cálculos do Índice Gonadossomático (IGS), Índice Hepatossomático (IHS) e fator de condição (K). Posteriormente, os órgãos foram seccionados transversalmente, e armazenados em frascos com solução fixadora contendo Glutaraldeído 2%, Paraformaldeído 4% e tampão fosfato (Karnovsky modificado). Posteriormente foram processados para microscopia de luz.

Análise de dados

Foram empregados testes estatísticos robustos, incluindo o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição dos dados, a análise de variância de dois fatores (Two-Way ANOVA) para explorar os efeitos das variáveis temperatura e tempo, e o teste de comparação de médias Sindak para avaliar as diferenças entre os grupos. Os dados foram expressos através de média e desvio padrão. Foi realizada a correlação linear de Pearson para comparar a relação entre as variáveis avaliadas.

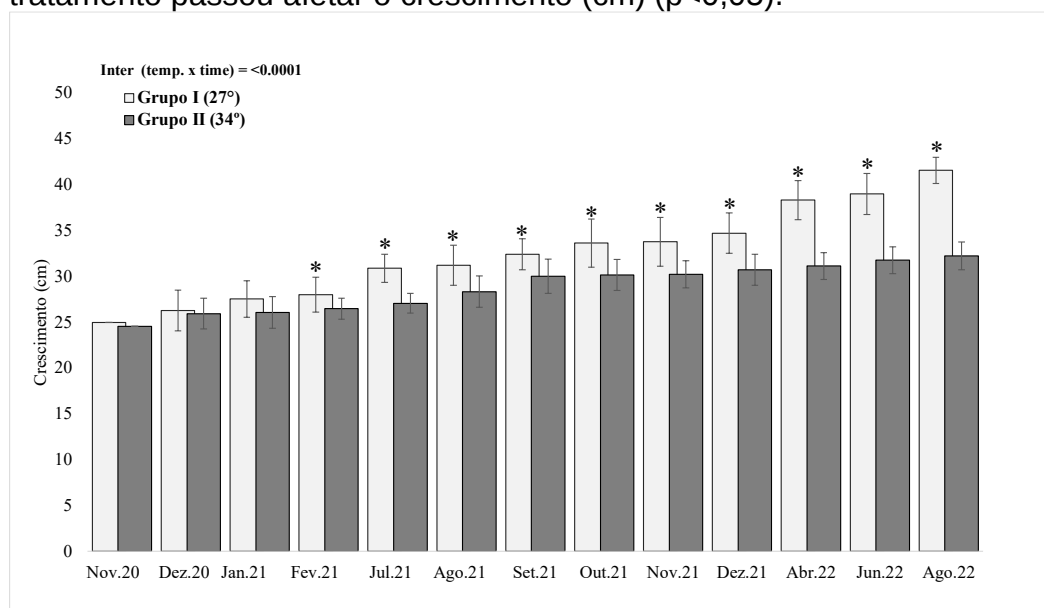
RESULTADOS

Interação tempo e temperatura: crescimento (cm) e ganho de massa (g)

Levando em consideração a interação entre as variáveis tempo e temperatura, diferenças estatísticas em relação crescimento considerando os grupos I e II foram observadas a partir de 92 dias (fev/21) após o início do experimento. Com os peixes no grupo I apresentando uma média crescimento de 12,12% ($33,63 \pm 2,66$ g), e nos peixes no grupo II o crescimento médio 6,01% ($30,15 \pm 1,47$ g). Considerando o percentual de crescimento entre os dois grupos (11,53%), podemos sugerir que a temperatura afeta a taxa metabólica dos peixes expostos ao estresse térmico (Figura 05).

Ao final do experimento, após 638 dias de exposição, e considerando a interação tempo x temperatura, os animais no grupo I, mantiveram o crescimento, como esperado, com uma diferença entre o início e o final de 16 cm (66,4%). No entanto, os animais no grupo II, apresentaram um crescimento consideravelmente mais lento, com aumento no tamanho em cerca de 7,25cm (29%). A diferença percentual de crescimento entre os dois grupos ao final do experimento foi de aproximadamente 56,4%.

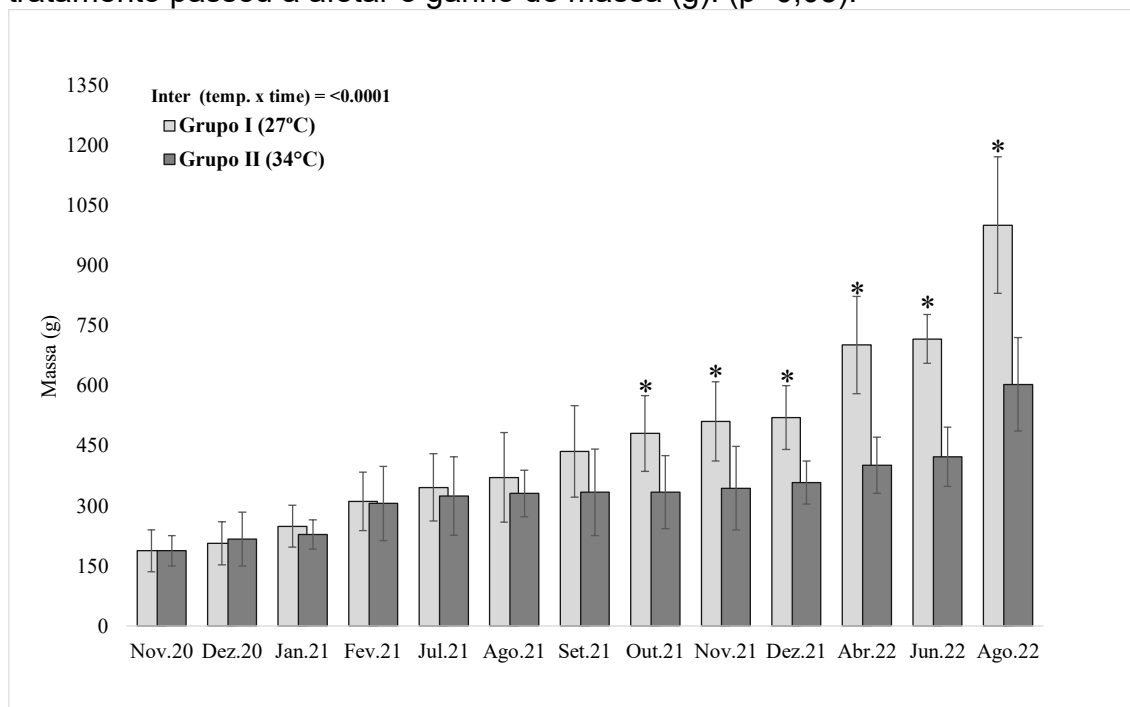
Figura 05. Histograma do crescimento de *Brycon orbignyanus* durante o período experimental. Os asteriscos (*), representam a partir de qual momento o tratamento passou afetar o crescimento (cm) ($p < 0,05$).



Em relação ao ganho de massa (g), diferenças estatísticas foram observadas após 334 dias de exposição aos tratamentos térmicos, no caso oito meses após as variações em relação ao crescimento (cm). O percentual de ganho de massa em relação ao peso inicial no grupo I, foi de 155,80% (292,86g), indicando uma variação considerável em comparação com o peso inicial de 188g. Já para o grupo II, o ganho foi de 77,92% (146,39 g). A diferença percentual de ganho de massa entre os dois grupos foi de aproximadamente 77,88%, evidenciando um desempenho superior dos peixes submetidos a 27 °C em relação aos expostos a 34 °C ao longo dos 334 dias (Figura 06).

Considerando o início (nov/20) e o final do experimento (ago/22), após 638 dias de exposição, os animais no grupo I apresentaram um ganho médio de 432,4% (812,63 g), e os animais no grupo II mantidos sob estresse térmico, o ganho de massa ao final do experimento foi de 220,7% (415,05 g). Com o grupo I apresentando massa final superior em relação ao grupo II (397g).

Figura 06. Histograma do crescimento de *Brycon orbignyanus* durante o período experimental. Os asteriscos (*), representam a partir que qual momento o tratamento passou a afetar o ganho de massa (g). ($p < 0,05$).



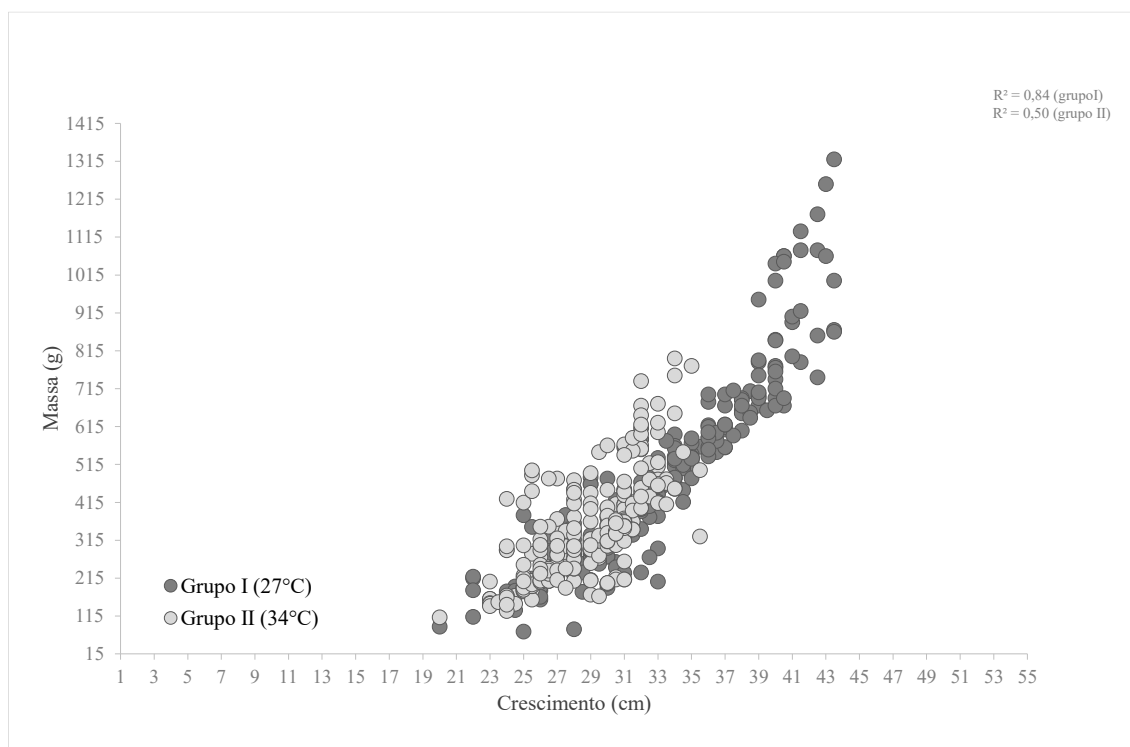
Indicadores Morfológicos

Para avaliar o estado nutricional e a saúde dos peixes, o fator K, revelou que os peixes do grupo I exibiram uma média próxima de 1, indicando uma relação equilibrada entre peso e comprimento, com um sólido ajuste aos dados ($R^2 = 0,8817$) (Figura 04). Por outro lado, no grupo II, observou-se uma média ligeiramente inferior indicando, uma massa proporcionalmente maior em relação ao comprimento, embora com um ajuste ligeiramente menos preciso aos dados ($R^2 = 0,5256$). Em termos práticos, isso indica que os peixes expostos e mantidos a temperatura elevada responderam de maneira diferente às condições experimentais em comparação aos peixes mantidos nas condições ideais, no caso 27°C (Figura 07).

Para expressar o quanto as mudanças na temperatura explicaram as variações no crescimento ou ganho de massa dos peixes, foi aplicado a análise de Correlação de Pearson aos dados, com isso, observamos que 84,50% da variação no crescimento dos animais mantidos no grupo, pode ser explicada pela temperatura. Isso indica uma forte associação linear positiva entre a temperatura de 27°C, e o crescimento dos peixes nesse grupo. O coeficiente de correlação de Pearson de 0,92 reforça essa forte relação positiva.

Por outro lado, o grupo II apresentou um R^2 de 50,98%, indicando que 50,98% da variação no crescimento é explicada pela temperatura de 34°C. Embora seja um valor significativo, ele é menor do que o observado no grupo I. O coeficiente de correlação de Pearson de 0,71 sugere uma relação positiva moderada entre a temperatura de 34 °C e o crescimento, mas não tão forte quanto a observada no grupo a 27 °C.

Figura 07. Análise do fator de condição considerando os animais expostos ao dois grupos.



Análise tecidual: Morfologia testicular e espermatogênese

Durante o acompanhamento do experimento, observamos variações significativas nas porcentagens das fases do desenvolvimento testicular de ambos os grupos (Tabela 01).

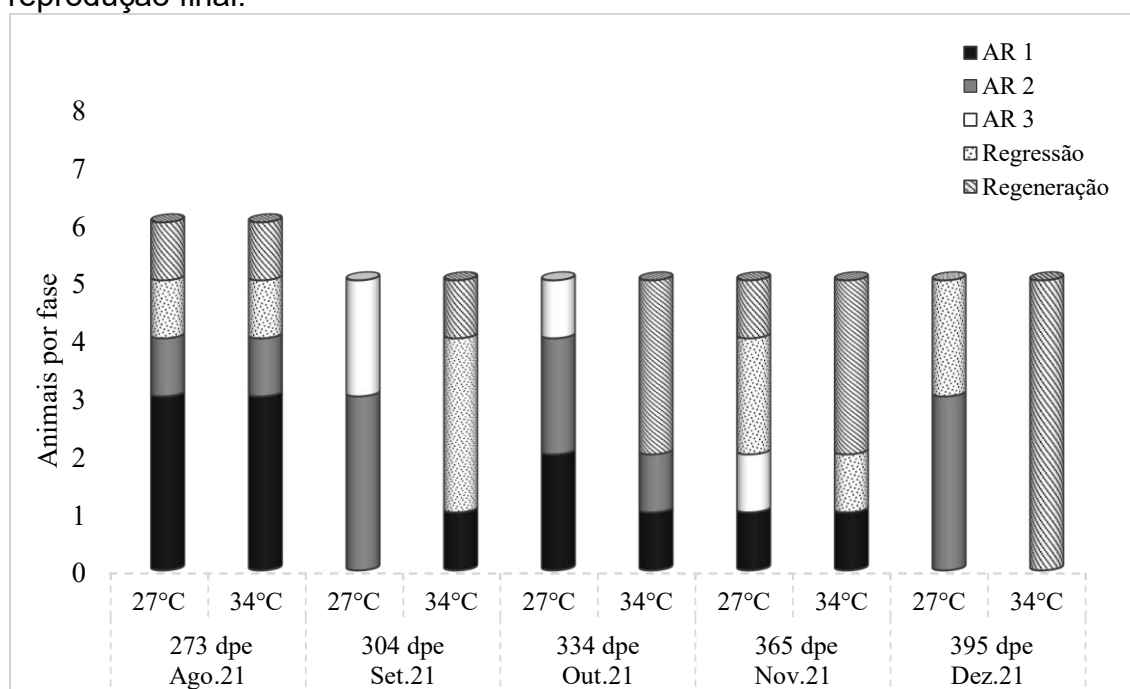
Tabela 01. Porcentagens de fases observadas de acordo com o tempo de exposição dos animais (*Brycon orbignyanus*) do grupo I (27 °C) e do grupo II (34 °C) (n=05).

Dias pós exposição	Temperatura	AR1	AR2	AR3	Regressão	Regeneração
273 dpe	27°C	50%	16,67%		16,67%	16,67%
Ago.21	34°C	33,33%	33,33%		20%	20%
304 dpe	27°C		60%	40%		
Set.21	34°C	20%			60%	20%
334 dpe	27°C	40%	40%	20%		
Out.21	34°C	20%	20%			60%
365 dpe	27°C	20%		20%	40%	20%
Nov.21	34°C	20%			20%	60%
395 dpe	27°C		60%	40%		
Dez.21	34°C					100%

As diferentes fases do desenvolvimento testicular em peixes apresentaram características distintas que refletiram o estado de maturidade reprodutiva e as atividades fisiológicas dos testículos.

No caso em peixes mantidos no grupo I, após 273 dias de exposição (Ago/21), 50% animais encontravam-se na fase de Apto a reprodução inicial (AR1) com testículos grandes, firmes com coloração branco leitoso, indicando uma maturidade sexual significativa. Lúmen sem ou com poucos espermatozoides presentes, e todas as etapas da espermatogênese estavam ativas, com um epitélio germinativo contínuo (Figura 8 e 9 - A e B).

Figura. 08. Histograma detalhado Interação tempo e temperatura em relação às fases espermatogênicas em *Brycon orbignyanus*, após 273 dias de exposição (dpe) às temperaturas do grupo I (27°C) e grupo II (34°C). AR 1: Apto a reprodução inicial; AR 2: Apto a reprodução intermediário; AR 3: Apto a reprodução final.

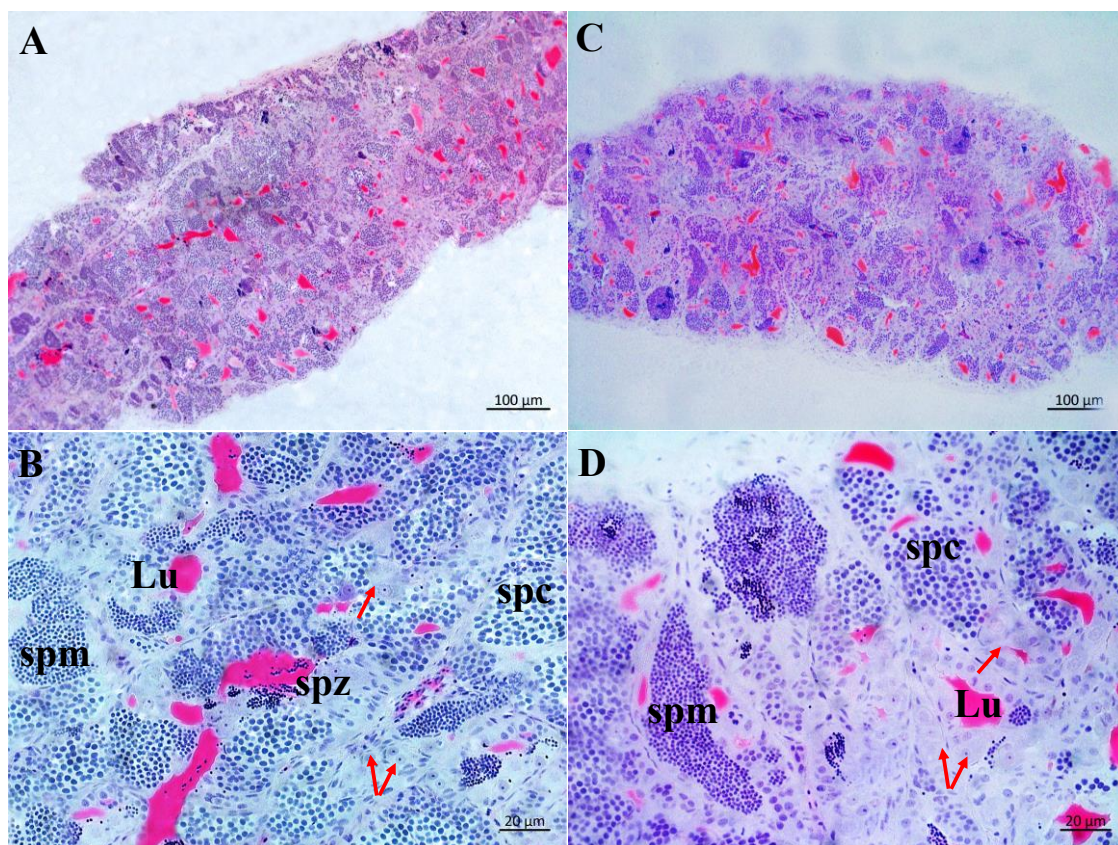


Demais fases foram observadas, sendo que 16.67% encontravam-se na fase de Apto a reprodução intermediário (AR2), onde apresentavam um epitélio germinativo descontínuo nas proximidades do ducto espermático, indicando uma transição entre a fase inicial e outras fases subsequentes do desenvolvimento testicular. A mesma porcentagem de fases foi observada para animais em Regressão e Regeneração (16,67%) (Figura 10).

Os animais na fase de Regressão, apresentaram testículos pequenos e flácidos, com a presença de espermatozoides residuais no lúmen, junto com espermátides não liberadas. Com proliferação das espermatogônias e regiões do epitélio germinativo com início da regeneração.

Na fase de Regeneração, os animais apresentaram testículos pequenos e filiformes, com um lúmen dos túbulos seminíferos discreto ou não detectável. Observou-se uma proliferação intensa das espermatogônias por todo o testículo, sem a presença de espermocistos, indicando um declínio na atividade reprodutiva e o processo de preparação para futuras atividades reprodutivas.

Figura 09. Visão geral dos testículos dos animais na fase de Apto a reprodução inicial expostos (AR 1). A-B: 27 °C (grupo I); C-D: 34 °C (grupo II).



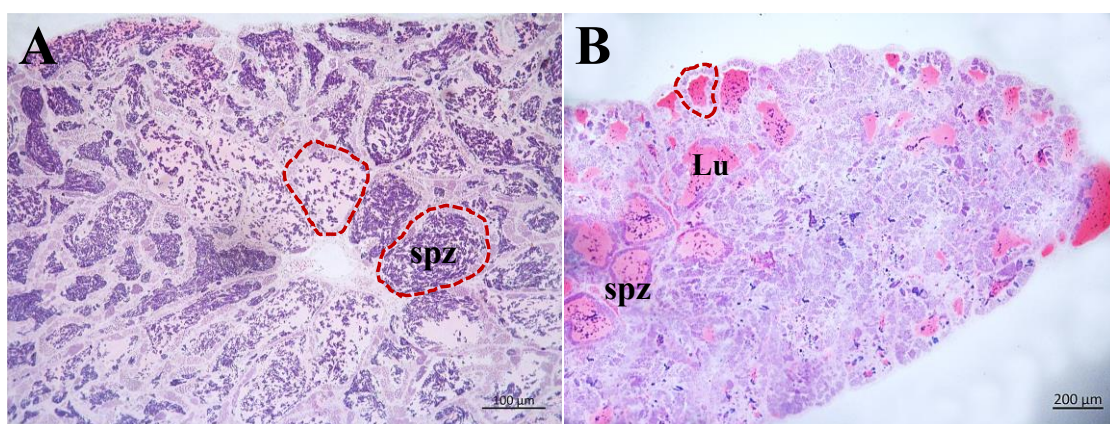
Já para os animais mantidos no grupo II aos 273 dpe, observamos 33.33% de animais em AR1 e o mesmo valor para animais em AR2, também foi observado animais já na fase Regressão (20%) e Regeneração (20%).

No grupo I, em set/21, com 304 dpe observou-se a presença das fases AR2 (60%) e AR3 (40%) nos animais. Os animais aptos à reprodução final apresentam testículos grandes, firmes e opacos. Evidente presença de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos, indicando plena atividade

reprodutiva. Epitélio descontínuo, permitindo a liberação eficiente dos espermatozoides. Marcando da maturidade reprodutiva, com os animais prontos para a reprodução (Figura 12).

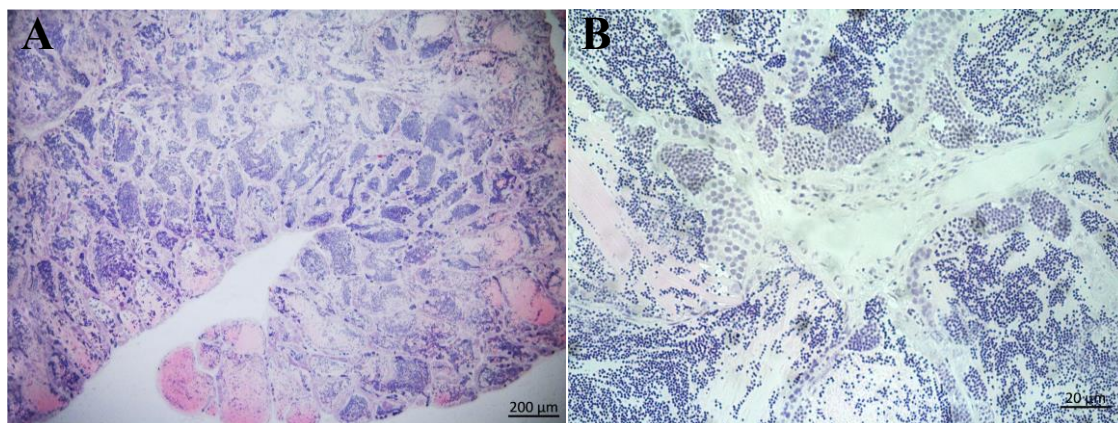
Por outro lado, no grupo II, exposto ao estresse térmico, apenas 20% permaneciam na fase de Apto a Reprodução Inicial (AR1), enquanto os demais saltaram diretamente para a fase de Regressão (60%) e Regeneração (20%). Essa diferença sugere que o estresse térmico pode estar afetando negativamente o desenvolvimento testicular dos peixes, levando-os a um estado de regressão mais rapidamente do que o normal.

Figura 10. Visão geral dos testículos dos animais na fase de Apto a reprodução Intermediária (AR 2). A- 27 °C (grupo I); B – 34 °C (grupo II).



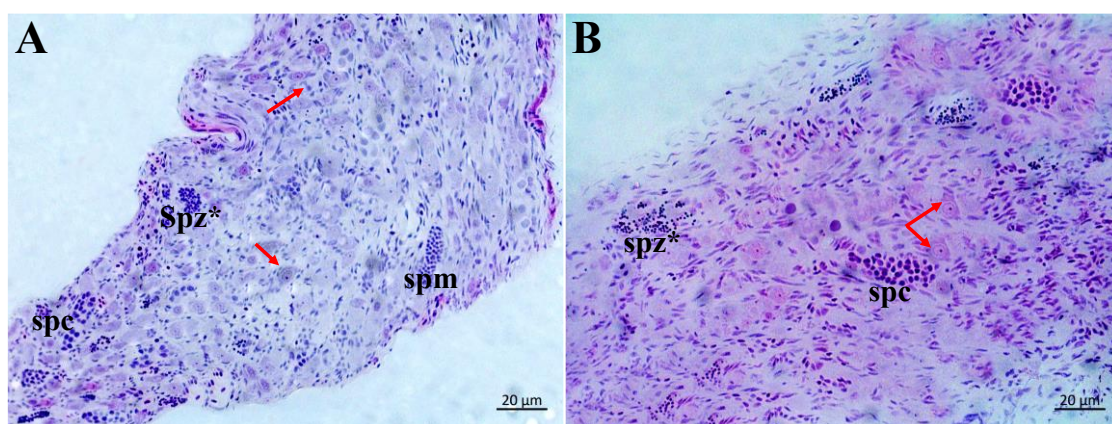
Aos 334 dias pós exposição, em out/21 os animais nas fases AR1 e AR2, no grupo I, representavam respectivamente 40%, sendo que os demais (20%) foram classificados como AR3. Já para o grupo II 20% mantiveram-se em AR1, 20% conseguiram avançar chegando a fase de AR2, no entanto 60% dos exemplares já se encontravam na fase de Regeneração.

Figura 10. Visão geral dos testículos dos animais na fase de Apto a reprodução Final (AR 3). A- 27 °C (grupo I); B – 34 °C (grupo II).



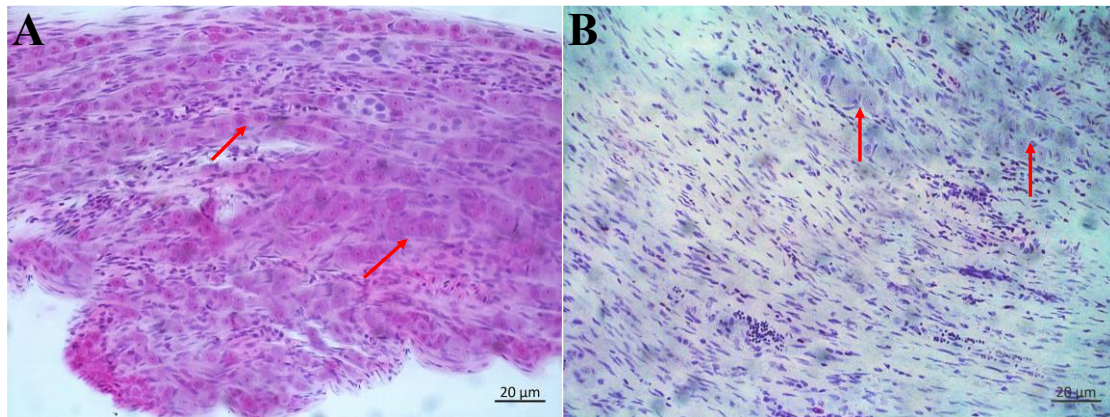
Após um ano do início do experimento, 20% os dos animais do grupo I encontravam-se na fase de AR1, a mesma porcentagem foi observada para AR3 e para a fase de Regeneração, e 40% correspondiam a fase de Regressão. No grupo II, animais na fase de AR1 correspondiam a 20%, assim como animais na fase de Regressão. Os demais animais encontravam-se na fase de Regeneração, correspondendo a 60%.

Figura 13. Visão geral dos testículos dos animais na fase de Regressão. A – 27 °C (grupo I); B – 34 °C (grupo II).



Aos 395 dpe, 60% dos animais do grupo I estavam na fase de AR2, e 40% na fase de AR3 (Figura 14). Já no grupo II, todos os exemplares encontravam-se na fase de Regeneração (Figura 13). Os animais dos primeiros 60 dpe, foram classificados como imaturos, com testículos pequenos, translúcidos e filiformes. Nesta fase, os testículos contêm apenas espermatogônias indiferenciadas.

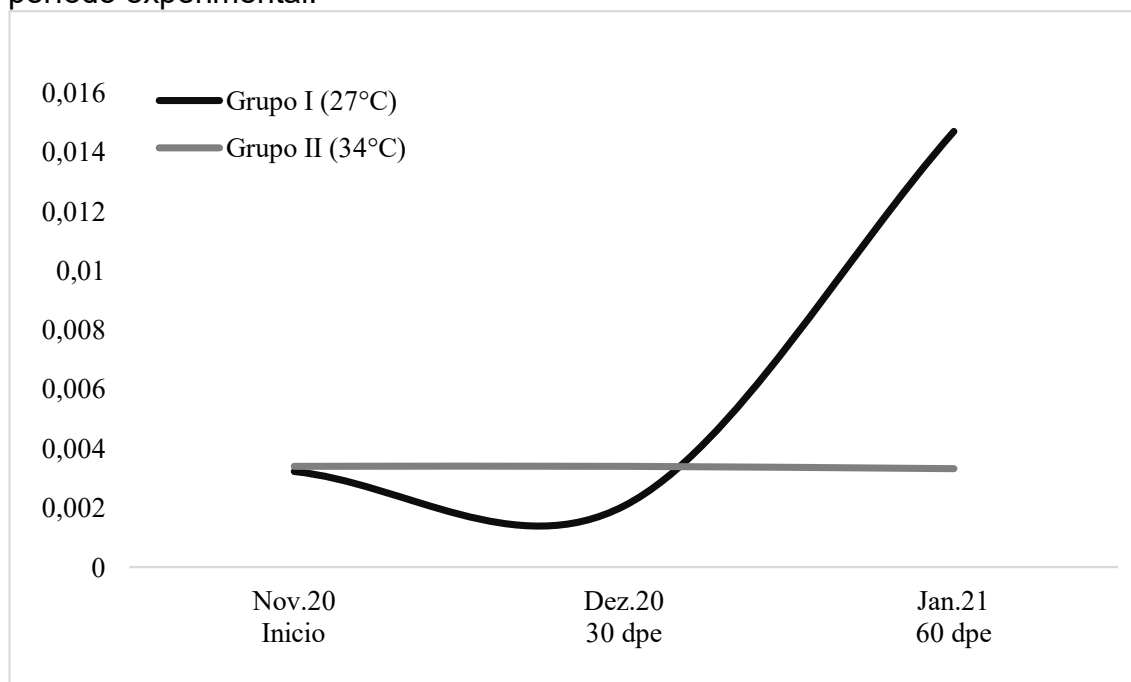
Figura 14. Visão geral dos testículos dos animais na fase de Regeneração. A – 27 °C (grupo I); B – 34 °C (grupo II).



Taxa de esforço reprodutivo: Índice Gonadossomático (IGS)

Até 60 dias pós exposição, não foi observado diferença estatística entre os animais do grupo I (27 °C) em relação ao grupo II (34 °C), quando comparado tempo e temperatura. Por serem animais de primeiro ciclo e imaturos, suas gônadas não apresentaram ganhos de massas suficientes para interferir nas faixas deste índice (Figura 15).

Figura. 15. Comportamento do índice gonadossomático (IGS) ao longo do período experimental.



O grupo I apresentou as seguintes médias para os meses avaliados: nov/20 ($0,0032 \pm 0,0018\%$), Dez/20 ($0,0021 \pm 0,0010\%$) e jan/21 ($0,0147 \pm 0,0237\%$). E o grupo II apresentou as seguintes médias, ($0,0034 \pm 0,0014\%$), Dez/20 ($0,0034 \pm 0,0013\%$), trinta dias de exposição, e jan/21 ($0,0033 \pm 0,0016\%$) com 60 dias de exposição.

Mesmo não havendo diferença significativa, após os 60 dpe, é possível observar uma diferença entre as médias, no caso em jan/21. Isso sugere que após o tempo de exposição a temperatura pode ter influenciado nos valores deste índice mesmo que não seja estatisticamente significativa.

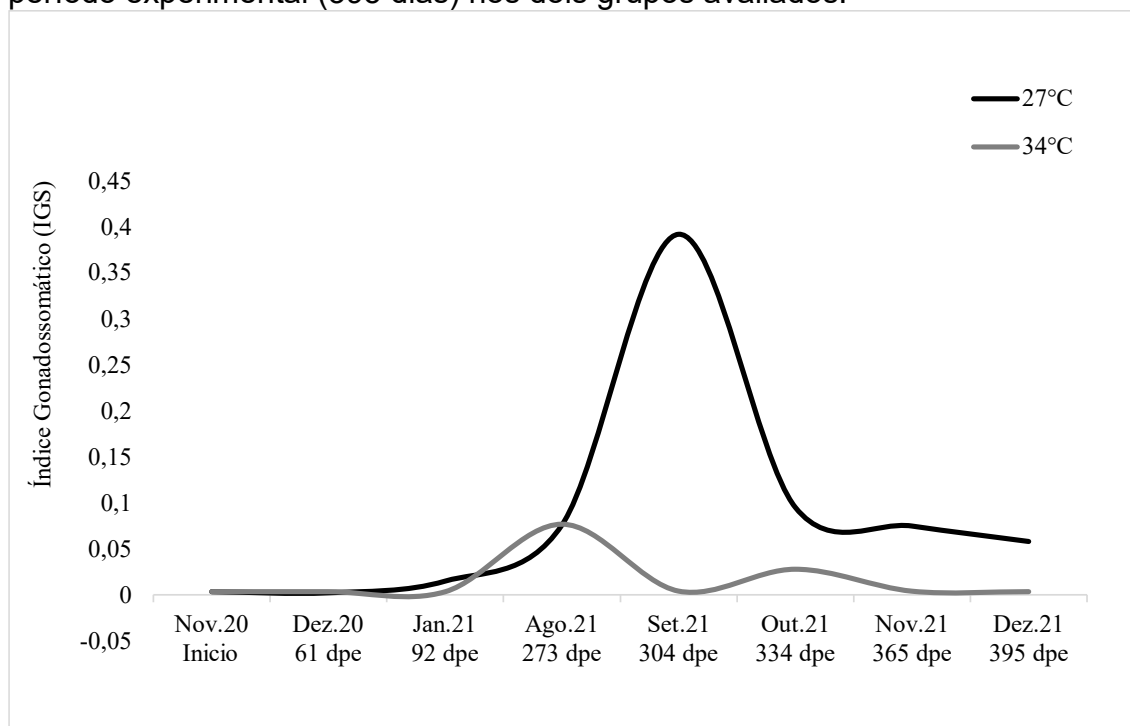
Após 273 dpe, não foi observado diferenças significativas entre no IGS dos grupos avaliados. Coincidindo com o observado para as fases espermatogênicas, onde o grupo I e II apresentaram respectivamente 60% e 40% dos em AR1. Nos demais meses, a análise estatística revelou diferenças significativas entre os grupos I e II. As médias do grupo II exposto à temperatura, indicam que a exposição prolongada afetou diretamente as massas, refletindo em alterações no índice gonadossomático, sendo a temperatura um fator determinante como pode ser observado na Figura 16 e Tabela 01.

Tabela 01. Resultados da comparação do IGS (%) dos animais (*Brycon orbignyanus*) expostos a 27 °C (grupo I) e 34 °C (grupo II) por um período de 395 dias de exposição.

	grupo I (27°C)	grupo II (34°C)
273 dpe	$0,0756 \pm 0,074^b$	$0,0768 \pm 0,108^{bc}$
304 dpe	$0,3919 \pm 0,260^a$	$0,0040 \pm 0,001^d$
334 dpe	$0,095 \pm 0,114^b$	$0,0278 \pm 0,052^{cb}$
365 dpe	$0,0746 \pm 0,074^{bc}$	$0,0039 \pm 0,002^d$
395 dpe	$0,0578 \pm 0,057^{ab}$	$0,0034 \pm 0,003^d$

Médias dos resultados obtidos com seus respectivos desvios-padrão. As letras a, b, c, d após os valores das médias indicam grupos estatisticamente diferentes, com base nas comparações realizadas.

Figura. 16. Comportamento do índice gonadosomático (IGS) ao longo do período experimental (395 dias) nos dois grupos avaliados.



De acordo com a gráfico, podemos afirmar que os animais mantido no grupo I (27°C) a temperatura não tem efeito significativo no IGS da espécie *Brycon orbignyanus*.

No entanto, em animais no grupo II, é possível visualizar como ação da temperatura afeta o desenvolvimento gonadal, e consequentemente afetar a espermatogênese. Com isso há evidências estatísticas e morfológicas para afirmar que a temperatura tem um efeito significativo no índice gonadosomático causando mudanças no padrão do mesmo.

DISCUSSÃO

Em *Brycon orbignyanus* a temperatura elevada influenciou negativamente no desenvolvimento dos animais, com relação ao crescimento e ganho de massa, bem como uma interrupção no avanço da maturação testicular ao longo do período reprodutivo, reduzindo os valores de IGS mesmo em indivíduos classificados na mesma fase de desenvolvimento testicular.

Esses resultados evidenciam como o aumento da temperatura influencia negativamente o metabolismo e parâmetros fisiológicos dos peixes, afetando seu crescimento e ganho de massa assim como parâmetros reprodutivos. Essa afirmação é confirmada quando observamos os peixes no grupo I, mantidos em condições ideais de temperatura (27°C), estes conseguiram manter um crescimento esperado e um estado nutricional mais equilibrado ao longo do experimento.

Essa resposta rápida ao estresse agudo observada em *Brycon orbignyanus*, está alinhada com projeções sobre o impacto das mudanças climáticas nas taxas metabólicas e redução do tamanho dos peixe (GARDNER et al., 2011; CHEUNG et al., 2013). Destacando uma tendência temporal negativa no tamanho médio do corpo de peixes com o aumento da temperatura (DAUFRESNE et al., 2009; SCHRECK, TORT 2016; BENÍTEZ-DORTA et al., 2017; STAVRAKIDIS-ZACHOU et al., 2023).

A forte associação entre temperatura e crescimento (84,50% e 50,98% explicados nos grupos I e II) em *Brycon orbignyanus*, sugere impactos negativos na saúde e no crescimento dos peixes em 34°C. Alterações a curto prazo no fator de condição, sugere que temperatura elevadas afetam o crescimento e a condição saudável dos juvenis de *Malabar blood snapper* (MAZUMDER et al., 2016). Dada a forte ligação entre temperatura e metabolismo dos peixes, espécies cultivadas estão mais susceptíveis, devido a estarem restritas ao ambiente de criação, impossibilitadas de evitar as condições ambientais adversas decorrentes das mudanças (BARANGE et al., 2018; SMALE et al., 2019).

Em contrapartida, em algumas espécies o aquecimento pode acelerar as taxas de crescimento, no entanto, nem sempre se traduz em maiores rendimentos, uma vez que a capacidade de carga dos recursos diminui com o

aumento da temperatura, levando a uma redução na abundância de peixes maiores e, conseqüentemente, na biomassa reprodutiva (LINDMARK et al., 2022).

Após 334 dias de exposição, notamos diferenças marcantes na relação entre ganho de massa, temperatura e tempo para *B. orbignyanus*. Em experimentos de longa duração com ampla variação de temperatura, observou-se que temperaturas extremas, como 35°C para *P. simulans*, levam a alterações metabólicas e atividades enzimáticas significativas, demandando mais energia para manter a homeostase (CAMPOS et al., 2017).

Em experimentos a tempo prolongado com temperaturas distintas (5,27°C a 36,64°C), foi constatado que em temperaturas extremas ocorre uma redistribuição de energia entre saúde/crescimento e tolerância ao calor, ocasionando uma diminuição significativa da massa corporal (WU et al., 2022), assim como no metabolismo, resposta imunológica e outras respostas fisiológicas dos peixes (ISLAM et al., 2021).

Fatores como o tempo de exposição, tamanho e condição corporal influenciam o ganho de massa ao longo do tempo, ao considerarmos os limites térmicos (STAVRAKIDIS-ZACHOU et al., 2023). O limite térmico de uma espécie depende da plasticidade fisiológica, da variação genética e das condições ambientais (CAMPOS et al., 2016). Portanto, a vulnerabilidade das espécies dependerá principalmente da temperatura da tolerância do organismo (DAHLKE et al., 2020; CAMPOS et al., 2021). A tolerância térmica tem sido estudada para ambientes aquáticos e organismos terrestres (CALOSI et al., 2008; GIOMI et al., 2014; PAUL et al., 2021).

As alterações observadas nas fases do desenvolvimento testicular de *B. orbignyanus* estão relacionadas às condições reprodutivas dos peixes. Assim como a temperatura pode beneficiar a gametogênese (QUIRINO et al. 2021), o estresse crônico pode impactar negativamente a maturidade reprodutiva (SIQUEIRA-SILVA et al., 2013), como observamos nos animais expostos a 34°C, onde apresentaram a uma transição rápida para fases de regressão e regeneração, indicando um comprometimento da espermatogênese, com os animais não conseguindo sair da fase de AR1, dando início ao processo de reabsorção e reorganização do epitélio.

Estudos a curto prazo testando os efeitos de temperaturas em *Astyanax lacustris* (*altiparanae*) revelaram padrões intrigantes. Após três semanas de a 35°C ficou evidente a esterilização no tecido testicular (SIQUEIRA-SILVA et al., 2015). No caso da nossa pesquisa observamos uma ausência notável de animais nas fases de Aptos a reprodução final e Regressão em peixes mantidos a 34°C por 395 dias. Essas informações corroboram com as hipóteses que a temperatura levaria a uma redução do desempenho reprodutivo (YADA, TORT, 2016). A falta de Aptos Finais e Regressão nesta temperatura sugere uma dinâmica reprodutiva única, possivelmente indicando uma transição rápida das fases anteriores para a fase de Regeneração.

Esta discrepância nas respostas espermatogênicas em diferentes temperaturas destaca a complexidade da regulação reprodutiva em diferentes espécies de peixes, ressaltando a necessidade de uma abordagem para cada contexto. Em trutas arco-íris a exposição a temperaturas elevadas durante a fase juvenil resultou em efeitos adversos na maturação gonadal e na qualidade dos gametas em machos, apontando para uma atrofia e subdesenvolvimento das gônadas (BUTZGE et al., 2021). Esses resultados são comparáveis aos nossos achados, onde observamos uma notável diferença nas fases reprodutivas em peixes expostos a 34°C.

Morgan e colaboradores (2022), observaram uma redução significativa na plasticidade fisiológica, do Zebra-fish em condições de laboratório, em comparação com seus equivalentes selvagens. Ao conectar esses achados com os resultados do presente estudo sobre os efeitos da temperatura na espermatogênese de peixes, pode-se especular que a redução na plasticidade fisiológica, como observado em zebra-fish de laboratório, pode influenciar a resposta reprodutiva a temperaturas variáveis. No caso da notável diferença em relação ao IGS, estudo usando como modelo a *A. longimanus*, foi observado uma assincronia reprodutiva sugerindo que diferentes temperaturas podem afetar a temporalidade reprodutiva em diferentes espécies de peixes (AL-DEGHAYEM et al., 2017).

Comparando esses resultados com a literatura existente sobre a biologia reprodutiva da espécie, destaca-se a importância da temperatura na regulação do ciclo reprodutivo (OLIVEIRA et al., 2017). Estudos anteriores indicam que temperaturas mais elevadas podem acelerar processos metabólicos e atividades

fisiológicas em peixes, o que pode estar influenciando diretamente a espermatogênese observada neste estudo (BUTZGE et al., 2021).

Esses achados não apenas contribuem para o entendimento da adaptação da espermatogênese às condições térmicas, mas também têm implicações para a gestão e conservação de populações de peixes em ambientes sujeitos a variações térmicas. O conhecimento dessas respostas pode ser fundamental para prever e mitigar os impactos das mudanças climáticas nos ecossistemas aquáticos. Em suma, este estudo destaca a sensibilidade da espermatogênese à temperatura e proporciona uma base sólida para investigações adicionais sobre a saúde reprodutivas de peixes em um contexto de mudanças climáticas globais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As mudanças climáticas, especialmente o aumento da temperatura, afetam significativamente a maturação sexual e o ciclo reprodutivo dos peixes neotropicais. A exposição prolongada ao estresse térmico pode levar a desequilíbrios nas fases espermatogênicas, influenciando negativamente a capacidade reprodutiva e a saúde da população de peixes.

Essas observações ressaltam a necessidade de monitoramento contínuo e estratégias de conservação adaptativas para proteger as espécies de peixes neotropicais em face das mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. **Conservation biology**, v. 19, n. 3, p. 646-652, 2005.
- AL-DEGHAYEM, W. A.; AL-BALAWI, H. F.; KANDEAL, S. A.; SULIMAN, E. A. M. Gonadosomatic index and some hematological parameters in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) as affected by feed type and temperature level. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 60, p. e17160157, 2017.
- ALIX, M.; KJESBU, O. S.; ANDERSON, K. C. From Gametogenesis to Spawning: How Climate-driven Warming Affects Teleost Reproductive. **Biology Journal Fish Biology**, v. 97, p. 607–632, 2020.
- ARENZON, A.; LEMOS, C. A.; BOHRER, M. B. C. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (cyprinodontiformes, rivulidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 743-747, 2002.
- ÁRNASON, T.; SMÁRADÓTTIR, H.; THORARENSEN, H.; STEINARSSON, A. Effects of Early Thermal Environment on Growth, Age at Maturity, and Sexual Size Dimorphism in Arctic Charr. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 10, p. 167, 2022.
- ASHIKAGA, F. Y.; ORSI, M. L.; OLIVEIRA, C.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F. The endangered species *Brycon orbignyanus*: genetic analysis and definition of priority areas for conservation. **Environmental Biology of Fishes**, v.98, p.1845-1855, 2015.
- BARANGE, M.; BAHRI, T.; BEVERIDGE, M. C.; COCHRANE, K. L.; FUNGE-SMITH, S.; POULAIN, F. Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. United Nations' Food and Agriculture Organization, v. 12, p. 628-635, 2018.
- BELLAY, S.; ROSA, R. R.; BOZZA, A. N.; FERNANDES, S. E. P.; SILVEIRA, M. J. Introdução de espécies em ecossistemas aquáticos: causas, prevenção e medidas de controle. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 9, p. 181-201, 2016.
- BENEVENTE, C. F. P. QUIRINO, P.; GOMES-SILVA, L.; DELGADO, M. L. R.; BIANCHINI, B. C.; FREITAS, G. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Stereological analysis of spermatogenesis in *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae). **Aquaculture Research**, p. 1–7, 2022.
- BENÍTEZ-DORTA, V.; CABALLERO, M. J.; BETANCAR, M.B; MACHADO, M; TORT, L; TORRECILLAS, S; ZAMORANO, M. J; IZQUIERDO, M; MONTERO, D. Effects of thermal stress on the expression of glucocorticoid receptor complex linked genes in Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Acute and adaptive stress

responses. **General and Comparative Endocrinology**, v. 252, p. 173-185, 2017.

BUTZGE, A. J.; YOSHINAGA, T. T.; ACOSTA, O. D. M.; FERNANDINO, J. I.; SANCHES, E. A.; TABATA, Y. A.; HATTORI, R. S. Early warming stress on rainbow trout juveniles impairs male reproduction but contrastingly elicits intergenerational thermotolerance. **Scientific Reports**, v. 11, p. 17053, 2021.

CAJADO, R. A.; OLIVEIRA, L. S.; SILVA, F. K. S.; ZACARDI, D. M.; ANDRADE, M. C. Effects of anomalous climatic events on the structure of fish larvae assemblages in the Eastern Amazon. **Frontiers in Environmental Science**, v. 10, p. 1-15, 2022.

CALOSI, P.; BILTON, D. T.; SPICER, J. I. Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. **Biology letters**, v. 4, n. 1, p. 99-102, 2008.

CAMPOS, D. F. D.; JESUS, T. F.; KOCHHANN, D.; HEINRICHS-CALDAS, W.; COELHO, M. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. Metabolic rate and thermal tolerance in two congeneric Amazon fishes: *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 and *Paracheirodon simulans* Géry, 1963 (Characidae). **Hydrobiologia**, v. 789, p. 133-142, 2017.

CARA, BE. D.; LUIZ, A. J. B.; NEVES, M. C. Método para expansão de uma série temporal de temperatura da água a partir de dados do sistema automático de monitoramento de variáveis ambientais (SIMA): aplicação em aquicultura no Reservatório de Furnas. **SBSR**, v. 16, p. 5491-5498, 2013.

CARVALHO-FREITAS, C. E.; RIVAS, A. A.; CAMPOS, C. P.; SANTANA, I.; KAHN, J. R.; ALMEIDA-CORREA, M. A.; CATARINO, M. F. The potential impacts of global climatic changes and dams on Amazonian fish and their fisheries. **New Advances and Contributions to Fish Biology**, p. 175-195, 2013.

CASTAGNOLLI, Newton. Piscicultura de água doce. Jaboticabal: **Funep**, v.189, p.181-195, 1992.

CHEUNG, W. W. L.; SARMIENTO, J. L.; DUNNE, J.; FRÖLICHER, T.; LAM, V. W. Y.; PALOMARES, M. L. D.; WATSON, R.; PAULY, D. Shrinking of fishes exacerbates impacts of global ocean changes on marine ecosystems. **Nature Climate Change**, v. 3, p. 254-258, 2013.

DAHLKE, F. T.; WOHLRAB, S.; BUTZIN, M.; PÖRTNER, H. O. Thermal bottlenecks in the life cycle define climate vulnerability of fish. **Science**, v. 369, n. 6499, p. 65-70, 2020.

DAUFRESNE, M.; LENGFELLNER, K.; SOMMER, U. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 31, p. 12788-12793, 2009.

DE ALEXANDRE J; S, NINHAUS-SILVEIRA, A; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R; BUZOLLO, H; SENHORINI, J. A; CHAGURI, M. P. Structural analysis of the

embryonic development in *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Zygote**, v. 18, p. 173-183, 2010.

FALCON, J.; MIGAUD, H.; MUNOZ-CUETO, J. A.; CARRILLO, M. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. **General and comparative endocrinology**, v. 165, p. 469-482, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State Of Food Security And Nutrition In The World 2020, Roma: United Nations Publishing, 2020a. Disponível em:

http://www.fao.org/3/ca9692en/online/ca9692en.html#chapter-1_1. Acesso em: 1 ago. 2023.

FRETO, T. A.; FREITAS, R. T. F. D.; SANTOS, V. B. D.; LOGATO, P. V. R.; VIVEIROS, A. T. D. M. Efeito do peso de abate nos rendimentos do processamento da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849). **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.676-682, 2005.

GARDNER, J. L.; PETERS, A.; KEARNEY, M. R.; JOSEPH, L.; HEINSOHN, R. Declining body size: a third universal response to warming? **Trends in ecology & evolution**, v. 26, p. 285-291, 2011.

GIOMI, F.; FUSI, M.; BARAUSSE, A.; MOSTERT, B.; PÖRTNER, H. O.; CANNICCI, S. Improved heat tolerance in air drives the recurrent evolution of air-breathing. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1782, p. 20132927, 2014.

GRIER, H. J.; URIBE-ARANZÁBAL, M. C. The testis and spermatogenesis in teleosts. **Reproductive biology and phylogeny of fishes (agnathans and bony fishes)**, v. 8, p. 119-142, 2009.

ILHA, P; SCHIESARI, L; YANAGAWA, F. I; JANKOWSKI, K; NAVAS, C. A. Deforestation and stream warming affect body size of Amazonian fishes, *Plos One*, v. 13, n. 5, p. e0196560, 2018.

IPCC. Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas. Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, And Vulnerability. Contribution of Working Group II to The Sixth Assessment Report of The Intergovernmental Panel on Climate Change.

ISLAM, M.D.J.; KUNZMANN, A.; SLATER, M. J. Responses of aquaculture fish to climate change-induced extreme temperatures: **A review. Journal of the World Aquaculture Society**, v. 53, n. 2, p. 314-366, 2021.

ITUASSU, D. R.; SPERA, S. T. Abordagem prática do dimensionamento da demanda hídrica em projetos de piscicultura. **EMBRAPA; Circular Técnica**, p. 1-17, 2018.

KUMAR, N; THORAT, S. T; CHAVHAN, S. R. Multifunctional role of dietary copper to regulate stress-responsive gene for mitigation of multiple stresses in *Pangasianodon hypophthalmus*. *Scientific Reports*, v. 14, p. 2252, 2024.

LEAL, M. C.; CARDOSO, E. R.; NÓBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R.; BOGERD, J.; FRANÇA, L. R.; SCHULZ, R. W. Histological and Stereological Evaluation of Zebrafish (*Danio rerio*) Spermatogenesis with an Emphasis on Spermatogonial Generations. **Biology of Reproduction**, v. 81, p.177–187, 2009.

LEMOS, V. M.; VARELA JR, A. S.; SCHWINGEL, P. R; MUELBERT, J. H, VIEIRA, J. P. Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. **Journal of fish biology**, v. 85, p. 671-687, 2014.

LIMA, F. C. T. A revision of the cis-andean species of the genus *Brycon* Müller & Troschel (Characiformes: Characidae). **Zootaxa**, v. 4222, n. 1, p. 1-189-1-189, 2017.

LINDMARK, M.; AUDZIJONYTE, A.; BLANCHARD, J. L.; GÅRDMARK, A. Temperature impacts on fish physiology and resource abundance lead to faster growth but smaller fish sizes and yields under warming. **Global change biology**, v. 28, p. 6239-6253, 2022.

LOPERA-BARRERO, N. M. Conservation of *Brycon orbignyanus* natural populations and stocks for their reproductive, genetic, environmental sustainability: A model for species threatened with extinction. **Ciencia e investigación agraria**, v. 36, n. 2, p. 191-208, 2009.

LOPERA-BARRERO, N. M.; DE SOUZA, F. P.; DE LIMA, E. C. S.; URREA-ROJAS, A. M.; DE CASTRO, P. L.; DOS REIS GOES, E. S.; RIBEIRO, R. P. Genetic diversity of migratory fish populations of the Rio Grande Reservoir (São Paulo, Brazil). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, p. 503-510, 2019.

LOPES, I. G.; ARAÚJO-DAIRIKI, T. B.; KOJIMA, J. T.; VAL, A. L.; PORTELLA, M. C. Predicted 2100 climate scenarios affects growth and skeletal development of tambaqui (*Colossoma macropomum*) larvae. **Ecology and evolution**, v. 8, p. 10039-10048, 2018.

MAZUMDER, S. K.; DAS, S. K.; BAKAR, Y.; GHAFAR, M. A. Effects of temperature and diet on length-weight relationship and condition factor of the juvenile *Malabar blood snapper* (*Lutjanus malabaricus* Bloch & Schneider, 1801). **Journal of Zhejiang University Science**, v. 17, p. 580, 2016.

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. 297, p.1137-1162, 2014.

MORGAN, R.; ANDREASSEN, A. H.; ÅSHEIM, E. R.; FINNØEN, M. H.; DRESLER, G.; BREMBU, T.; JUTFELT, F. Reduced physiological plasticity in a fish adapted to stable temperatures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, p. e2201919119, 2022.

OLIVEIRA, D. J.; ASHIKAGA, F. Y.; FORESTI, F.; SENHORINI, J. A. Conservation status of the “piracanjuba” *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes, Bryconidae): basis for management programs. **Biodiversidade Brasileira**, v. 7, p. 18-33, 2017.

OLIVEIRA-ALMEIDA, I.; RODRIGUES, I.; BUZOLLO, H.; COSTA, R. S.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; PORTO-FORESTI, F.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Structural analysis of embryogenesis of *Leiarius marmoratus* (Siluriformes: Pimelodidae). *Zygote*, p. 1–16, 2014.

PAIVA, A. C.; CHAVES, P. D. T. D. C.; ARAÚJO, M. E. D. Estrutura e organização trófica da ictiofauna de águas rasas em um estuário tropical. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 25, p. 647-661, 2008.

PANARARI-ANTUNES, R. D. S.; PRIOLI, A. J.; PRIOLI, S. M. A. P.; GALDINO, A. S.; JULIO JUNIOR, H. F.; PRIOLI, L. M. Genetic variability of *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes: Characidae) in cultivated and natural populations of the upper Parana river, and implications for the conservation of the species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, p.54, .839-848, 2011.

PAUL, N.; NOVAIS, S. C.; SILVA, C. S.; MENDES, S.; KUNZMANN, A.; LEMOS, M. F. Global warming overrides physiological anti-predatory mechanisms in intertidal rock pool fish *Gobius paganellus*. **Science of The Total Environment**, v. 776, p. 145736, 2021.

PIEDRAS, S. R. N.; MORAES, P. R. R.; POUEY, J. L. O. F. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 177-182, 2004.

PINHEIRO, J. P. S.; LIMA, J.; ASSIS, C. B.; BRANCO, G. S.; GOMES, D. A.; MOREIRA, R. G. Paternal exposure to aluminum, acidity, and temperature affect fatty acid seminal profile, embryonic and larval development of *Astyanax altiparanae*. **Chemosphere**, v. 266, p. 128935, 2021.

PÖRTNER, H.O.; ROBERTS, D.C.; TIGNOR, M.; OLOCZANSKA, E.S.P.; MINTENBECK, K.; A.; ALEGRÍA, M. CRAIG, LANGSDORF, S.; S.; LÖSCHKE, MÖLLER, V.; OKEM, A.; RAMA, B. **Cambridge University Press**, p. 3056, 2022.

QUIRINO, P. P.; SILVA, R. M.; SILVA, C. L. E. M.; SIQUEIRA-SILVA, D. H., MORI, R. H., BUTZGE, A. J.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 747-755, 2021.

REBOUÇAS, P. M.; LIMA, L. R.; DIAS, I. F.; BARBOSA FILHO, J. A. D. Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 2, p. 35-42, 2014.

REIS, V. R.; PAIXÃO, R. V.; MORAIS, I. D. S.; BANDEIRA, I. C.; VAL, A. L.; SILVA, G. F.; O'SULLIVAN, F. L. D. A. Effect of temperature on the early sexual development of tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture International**, p. 1-15, 2023.

SCHRECK, C.B; TORT, L. The Concept of Stress in Fish. **Fish Physiology: Biology of Stress in Fish**, v. 35, 1-15, 2016.

SERVILI, A.; CANARIO, A. V., MOUCHEL, O.; MUÑOZ-CUETO, J. A. Climate change impacts on fish reproduction are mediated at multiple levels of the brain-pituitary-gonad axis. **General and Comparative Endocrinology**, v. 291, p. 113439, 2020.

SIQUEIRA-SILVA, D. H. D.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Reproductive cycle of the Neotropical cichlid yellow peacock bass *Cichla kelberi*: A novel pattern of testicular development. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, p. 587-596, 2013.

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, p. 218-226, 2019.

SIQUEIRA-SILVA, DH.; SANTOS, SILVA.; AP, NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The effects of temperature and busulfan (Myleran) on the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) spermatogenesis. **Theriogenology**, v. 84, p. 1033 -1042, 2015.

SMALE, D. A.; WERNBERG, T.; OLIVER, E. C.; THOMSEN, M.; HARVEY, B. P.; STRAUB, S. C.; MOORE, P. J. Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. **Nature Climate Change**, v. 9, p. 306-312, 2019.

STAVRAKIDIS-ZACHOU, O.; PAPANDROULAKIS, N.; LIKA, K. A bioenergetics approach to modelling tolerance limits under acute thermal stress in farmed finfish. **Frontiers in Marine Science**, v. 10, p.1173358, 2023.

TONELLA, L. H.; DIAS, R. M.; VITORINO, O. B.; FUGI, R.; AGOSTINHO, A. A. Conservation status and bio-ecology of *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae), an endemic fish species from the Paraná River basin (Brazil) threatened with extinction. **Neotropical Ichthyology**, v. 17, 2019.

VAL, A. L; WOOD, C.M. Global change and physiological challenges for fish of the Amazon today and in the near future. **Journal of Experimental Biology**, v. 225, p. 1-14, 2022.

WATSON, A. S.; HICKFORD, M.J.H; SCHIEL, D. R. Interacting effects of density and temperature on fish growth rates in freshwater protected populations. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 289, n. 1967, p. 20211982, 2022.

WU, Y.; YU, X.; SUO, N.; BAI, H.; KE, Q.; CHEN, J.; XU, P. Thermal tolerance, safety margins and acclimation capacity assessments reveal the climate vulnerability of large yellow croaker aquaculture. **Aquaculture**, v. 561, p. 738665, 2022.

YADA, T; TORT, L. Stress and Disease Resistance: Immune System and Immunoendocrine Interactions. **Fish Physiology**, v. 35, p. 365-403, 2016.

YAMAMOTO, Y; HISHIKAWA, D; ONO, F. Trpv4-mediated apoptosis of Leydig cells induced by high temperature regulates sperm development and motility in zebrafish. **Communications Biology**, v. 7, p. 96, 2024.

ZARDO, É. L; FORNARI, D. C.; GIORA, J.; ROTILI, D. A.; GOMES, I. C.; ESQUIVEL-MUELBERT, J. R.; STREIT JR, D. P. Gonadal development period and sexual differentiation through histological analysis in *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes: Bryconidae). **Aquaculture**, v. 539, p. 736636, 2021.

CAPÍTULO II

Efeitos da alta temperatura nas características seminais de *Brycon orbignyanus* (Characiformes, Bryconidae)

Efeitos da Alta Temperatura nas Características Seminais de *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae):

Resumo

Variações na temperatura impactam diretamente a reprodução, e consequentemente os gametas. No caso de machos, o comprometimento das funções reprodutivas pode causar alterações espermáticas, comprometendo sua motilidade, morfologia e fertilização. Isso inclui danos como irregularidades na morfologia espermática, redução na motilidade e velocidade dos espermatozoides, e possíveis mutações no material genético. A compreensão desses efeitos é crucial para avaliar a saúde reprodutiva das populações de peixes frente às mudanças climáticas. Estudos adicionais são necessários para analisar de forma mais detalhada a influência das temperaturas elevadas na qualidade seminal e nos parâmetros espermáticos. Análises minuciosas são essenciais para avaliar a viabilidade espermática e a saúde reprodutiva das espécies de peixes em um contexto de mudanças climáticas. Duzentos exemplares foram distribuídos em dois tanques, mantidos a 27°C (grupo I) e 34°C (grupo II), respectivamente, nas estufas de experimentação do Laboratório de Ictiologia Neotropical - L.I.NEO, UNESP/FEIS, Ilha Solteira/SP. Foram induzidos hormonalmente cinco exemplares de *B. orbignyanus* por grupo, após 130 horas térmicas acumuladas, o sêmen foi coletado. A análise do sêmen incluiu técnicas como coloração, volume seminal, motilidade, concentração espermática, integridade da membrana e morfologia espermática. A osmolalidade do plasma seminal também foi avaliada. As análises foram realizadas utilizando microscopia de contraste de fase e sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), permitindo a medição de parâmetros como motilidade total, motilidade progressiva, velocidade dos espermatozoides e outras características morfológicas. Os dados foram tratados estatisticamente, incluindo análise de componentes principais (PCA), para compreender as relações entre os parâmetros espermáticos e o efeito da temperatura na qualidade do sêmen de *B. orbignyanus*. Após 822 dias, peixes expostos a 34°C apresentaram redução na concentração de espermatozoides e aumento de danos na membrana espermática em comparação com os mantidos a 27°C. A análise morfológica revelou deterioração significativa nos espermatozoides do grupo a 34°C, com mais danos primários e menos células normais. As análises computadorizadas destacaram diferenças na motilidade progressiva e na velocidade dos espermatozoides entre os grupos. A temperatura da água influenciou diretamente a qualidade seminal e o comportamento espermático, evidenciando a importância desse fator ambiental na reprodução de peixes como a *B. orbignyanus*.

Palavras-chave: Reprodução. Estresse térmico. Teleósteos. Reofilicos.

Effects of High Temperature on the Seminal Characteristics of *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae): A Study in the Face of Climate Change

ABSTRACT

Variations in temperature directly impact reproduction, and consequently gametes. In the case of males, impaired reproductive functions can cause sperm changes, compromising their motility, morphology and fertilization. This includes damage such as irregularities in sperm morphology, reduction in sperm motility and speed, and possible mutations in genetic material. Understanding these effects is crucial to assessing the reproductive health of fish populations in the face of climate change. Additional studies are needed to analyze in more detail the influence of high temperatures on seminal quality and sperm parameters. Detailed analyzes are essential to assess sperm viability and reproductive health of fish species in a context of climate change. Two hundred specimens were distributed in two tanks, maintained at 27°C (group I) and 34°C (group II), respectively, in the experimental greenhouses of the Neotropical Ichthyology Laboratory - L.I.NEO, UNESP/FEIS, Ilha Solteira/SP. Five specimens of *B. orbignyanus* per group were hormonally induced, after 130 accumulated thermal hours, the semen was collected. Semen analysis included techniques such as color, seminal volume, motility, sperm concentration, membrane integrity and sperm morphology. Seminal plasma osmolality was also evaluated. The analyzes were carried out using phase contrast microscopy and the CASA system (Computer Assisted Sperm Analysis), allowing the measurement of parameters such as total motility, progressive motility, sperm velocity and other morphological characteristics. The data was treated statistically, including principal component analysis (PCA), to understand the relationships between sperm parameters and the effect of temperature on *B. orbignyanus* semen quality. After 822 days, fish exposed to 34°C showed a reduction in sperm concentration and increased damage to the Sperm membrane compared to those kept at 27°C. Morphological analysis revealed significant deterioration in sperm from the 34°C group, with more primary damage and fewer normal cells. Computerized analyzes highlighted differences in progressive sperm motility and speed between groups. Water temperature directly influenced seminal quality and sperm behavior, highlighting the importance of this environmental factor in the reproduction of fish such as *B. orbignyanus*.

Keywords: Reproduction. Thermal stress. Teleosts. Rheophilics.

INTRODUÇÃO

A temperatura desempenha um papel crucial no comportamento reprodutivo dos peixes, servindo como um importante indicador/gatilho ambiental (ALIX et al., 2020). Variações nesses parâmetros influenciam na fisiologia (RIBEIRO et al., 2012), desempenho reprodutivo (SIQUEIRA-SILVA et al., 2015; BUTZGE et al., 2021; QUIRINO et al., 2021), assim como nas taxas metabólicas (WEN et al., 2017) e qualidade dos gametas (BALDISSEROTTO, 2009; NOWOSAD et al., 2014; WEN et al., 2017; VAGNER et al., 2019).

Considerar o impacto do ambiente térmico na reprodução e no manejo reprodutivo das espécies de peixes (TEIXEIRA et al., 2012; REBOUÇAS et al., 2014; NAKAMURA et al., 2015), é necessário, uma vez que estes fatores estão interligados (RIBEIRO, MOREIRA, 2012; PORTELLA et al., 2021), mesmo os peixes tendo uma certa tolerância térmica (plasticidade) (CAMPOS et al., 2017), essa sensibilidade às flutuações na temperatura pode variar dependendo da espécie, devido às janelas de tolerância térmica (VINAGRE et al., 2015; DAHLKE et al., 2020).

Quando se trata de qualidade de gametas a temperatura deve ser considerada, pois desempenha um papel crucial na reprodução (BUCKLEY, HUEY 2016; SMALE et al., 2019), influenciando diretamente o sucesso reprodutivo e a viabilidade das populações (PRADO-LIMA, VAL, 2016; BUTZGE et al., 2021). E fatores, como alimentação, idade e condições do ambiente também devem ser considerados (KOWALSKI, CEJKO, 2019). Os efeitos adversos da temperatura sobre a fertilização podem resultar em dificuldades, uma vez que a capacidade dos espermatozoides de atingir o óvulo é influenciada pela motilidade e velocidade dos espermatozoides (ALIX et al., 2020). É importante notar que o estresse térmico pode reduzir a motilidade dos espermatozoides, afetando sua capacidade de locomoção e, conseqüentemente, a fertilização (CEJKO et al., 2016; KHOLODNYY et al., 2020).

Além disso, devemos considerar etapas anteriores ao gameta já formado, e suas características, no caso durante a espermatogênese, a exposição prolongada a temperaturas mais altas pode levar à ativação espermática precoce, resultando em uma redução na velocidade dos espermatozoides

(FENKES et al., 2017). Isso compromete não apenas o tempo de fertilização, mas também a eclosão e a morfologia de embriões/larvas (PINHEIRO et al., 2021). Assim como, durante a espermiogênese, podem surgir alterações na morfologia dos espermatozoides, bem como nos embriões e larvas. Por exemplo, variações na forma e no tamanho da cabeça dos espermatozoides podem resultar em compactação inadequada da cromatina, o que por sua vez pode levar a mutações no material genético (MONTANARI, 2013; FERNANDES et al., 2020).

Em mamíferos por exemplo, esses danos normalmente são resultados de divisões nucleares irregulares durante a meiose, transformação anormal do núcleo, vesícula de Golgi, centríolos e mitocôndrias das espermatídes, falhas na migração da gota citoplasmática durante a espermiogênese (LAGERLÖF, 1936). E durante a espermatogênese, diversas influências, como a idade dos animais (GASPARINI et al., 2010), fatores genéticos e nutricionais (HERMAN et al., 1994), podem ocasionar alterações na morfologia espermática. Esses danos, podem ser classificados de considerando o grau de anormalidades na morfologia espermática (MILIORINI et al., 2011) (Tabela 1). Esses parâmetros são essenciais para avaliar a qualidade dos espermatozoides, fornecendo informações detalhadas sobre sua capacidade de fertilização e mobilidade (KHOLODNYI et al., 2020).

Tabela 01. Descrição das anormalidades espermáticas gerais observadas por Miliorini et al, 2011.

Seguimento afetado	Alterações primárias	Alterações secundárias
Cabeça	Macrocefalia	Normal livre
	Microcefalia	
	Degenerada	
Peça intermediária	Degenerada	Gota citoplasmática proximal
Cauda (porções iniciais e finais)	Fraturada	Gota citoplasmática distal
	Coto (rompida)	Curvatura simples
	Fortemente enrolada	

Fonte: Miliorini et al., 2011

Essa padronização facilitou agrupar os danos, e determinar se estes foram decorrentes do processo de formação do espermatozoide, ou se foi decorrente do manejo. A separação entre alterações primárias (Figura 01) e secundárias (Figura 02), assim como a porcentagem dessas por amostra, auxiliam na avaliação da qualidade seminal (STREIT JR. et al., 2006; LEITE et al., 2020; CASTRO et al., 2024). O comprometimento da gametogênese, frente as mudanças climáticas é uma realidade (MIRANDA et al., 2013; SIQUEIRA-SILVA et al., 2015; LUO et al., 2017; SHAHJAHAN et al., 2017; BUTZGE, et al., 2021). Sendo cada vez mais necessários estudos que avaliem os efeitos cumulativos da alta temperatura na qualidade seminal (FENKES et al., 2017; FENKES et al., 2019).

A compreensão de todos os fatores que envolvem a gametogênese, torna-se essenciais, deste a análise morfológica até análises mais minuciosas, como características que determinam a viabilidade espermática, volume seminal, concentração espermática (ALIX et al., 2020; FERNANDÉZ et al., 2024; KIME et al., 2011; BORYSHPOLETS et al., 2013; O'MEARA, et al., 2023).

MATERIAL E MÉTODOS

Novecentos juvenis de *B. orbignyanus* oriundos Estação de Aquicultura da U.H.E., Promissão/SP - AES - Tietê, com um mês após a reprodução foram encaminhados para a estufa de experimentação do Laboratório de Ictiologia Neotropical - L.I.NEO, UNESP/FEIS, Ilha Solteira/SP, estes foram mantidos por oito meses (fevereiro/2020 a outubro/2020), em tanque de geomembrana (4.500 L) até o início do experimento, sob fotoperíodo e temperaturas naturais.

Após esse período, em outubro de 2020, um mês antes do início do experimento, 400 exemplares do lote acima citado ($n=900$), foram distribuídos em dois tanques circulares da mesma volumetria, ficando cada tanque com um $n= 200$. Passados um mês de aclimação, em novembro de 2020 o experimento teve início, com o aumento de 1°C da temperatura a cada dois dias do tanque que ficaria sob estresse térmico agudo, até atingir a temperatura proposta, no caso 34°C . O tanque I foi nomeado como “grupo I” e foi mantido a uma temperatura de $27 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ e o tanque 2, foi nomeado como “grupo II”, e mantido a uma temperatura constante de $34 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$.

Em ambos os grupos a massa corporal média (inicial) foi de $188,03 \pm 45,14$ g e comprimento total médio de $24,76 \pm 1,95$ cm. A alimentação foi a base de ração comercial (32% de proteína bruta). Até completarem um ano a porcentagem de ração foi de 3% por kg, e após um ano a porcentagem foi de 1% por kg, com atualização mensal considerando a biomassa total do tanque pela necessidade de proteína. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, até a saciedade aparente, durante todo período experimental.

Para manter a temperatura dentro do esperado, aos respectivos tanques foram equipados com aquecedores, resfriadores (Chiller), acoplados com serpentina de titânio. Para compensar a demanda de oxigênio, aos filtros dos respectivos tanques foi adicionado um sistema de oxigenação extra, alimentado por um compressor radial. Em ambos os tanques as temperaturas eram acionadas e controladas automaticamente com auxílio de termostatos configurados para ligar e desligar caso alguma das temperaturas fugisse do pré-estabelecido.

Complementar aos aparelhos, diariamente as temperaturas foram aferidas em dois períodos, início da manhã e fim da tarde com auxílio de

termômetro. Os demais parâmetros de qualidade de água como, pH, Amônia, Oxigênio dissolvido foram acompanhados duas vezes por semana usando kits específicos. A manutenção dos tanques, filtros e decantadores foi feita a cada sete dias, ocorrendo troca de 30% da água, limpeza total do decantador, assim como troca de mantas acrílicas e eliminação de detritos dos filtros

Após 822 (117 semanas), cinco animais do grupo I com massa média de $1 \pm 1,8$ kg e cinco do grupo II ($34 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$), com massa média de $500 \pm 2,5$ kg foram capturados aleatoriamente com auxílio de redes (Puçás), induzidos hormonalmente, utilizando extrato bruto de hipófise de *Cyprinus carpio* em uma dosagem única de 3 mg/kg de peixe vivo (GONÇALVES et al., 2013). Após 130 unidades térmicas acumuladas (UTAs) ou hora/grau, foram anestesiados de solução de benzocaína a 1% (SIGMA - ALDRICH E1501).

O sêmen foi então extrusado por meio de massagem abdominal no sentido craniocaudal do corpo e coletado com o auxílio microtubos, e micropipetas de 10 – 100 μl (KASVI-K1-100B). Para evitar ativação/contaminação do sêmen com fluidos biológicos do animal (fezes, urina ou sangue), área da papila urogenital foi seca com auxílios de toalhas e papeis absorventes (Figura 01).

Visando investigar a influência da exposição às duas temperaturas na qualidade do sêmen, de *Brycon orbignyanus*, os seguintes parâmetros foram avaliados: Coloração; Volume seminal, considerando até o momento de parada da espermiacção ou de observação de contaminação com sangue; Duração da motilidade, considerando desde a ativação dos espermatozoides até a observação de 10% dos espermatozoides móveis; Concentração espermática (espermatozoides/mL), mensurada por meio da Câmara Hematimétrica do tipo Neubauer, para isso o sêmen foi diluído em solução formol-salina na proporção de 1:1000, respectivamente (NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006).

Assim como a osmolalidade do plasma seminal, para isto o sêmen foi centrifugado a 2.5000 rpm, durante 15 minutos, sendo o sobrenadante coletado e analisado em osmômetro (OSMOMAT® model 030, Berlim, Alemanha); Integridade da membrana espermática ou sobrevivência espermática, foi determinada pelo método de coloração em eosina-nigrosina, A eosina é um corante que destaca células com membrana plasmática danificada, colorindo-as de rosa, enquanto a nigrosina cria um fundo escuro que ressalta os

espermatozoides não corados (SWANSON, BEARDEN 1951; BRITO, 2007). Para esta análise os espermatozoides foram corados na proporção 1:10:10 (sêmen:eosina:nigrosina), sendo considerados vivos quando permaneciam incolores, indicando membrana íntegra; ou mortos, quando corados de rosa, indicando membrana rompida de acordo com Lopes et al., (2018). Foram contados 200 espermatozoides por peixe utilizando um microscópio de luz (Olympus CX41) em aumento de 40X.

Além disso, todas as amostras foram avaliadas usando o sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) (ISAS® Integrated Semen Analysis System, Proiser, Valência, Espanha), acoplado a um microscópio de contraste de fase UB200i (UOP/Proiser) com uma objetiva de contraste de fase negativa 10x. As imagens foram capturadas com câmera ISAS 782C (Proiser, Espanha) e processadas com software CASA usando 50 frames por segundo (fps). O sêmen foi ativado pela adição 30 µl de água destilada à 0,5µl de sêmen em uma câmera Makler™ (Sefi Medical Instruments Ltd, Israel), e análise realizada após 10 segundos de ativação.

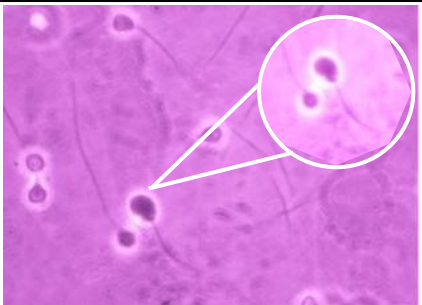
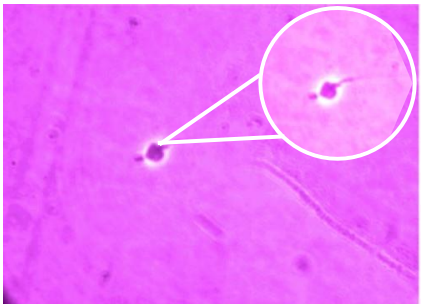
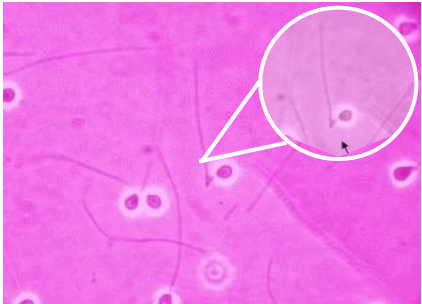
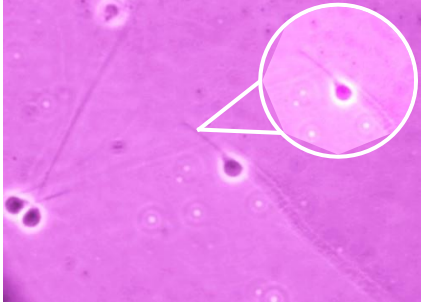
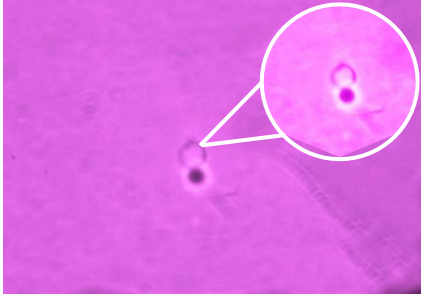
Foram avaliados a motilidade total (MOT, %), motilidade progressiva (PR, %), espermatozoides rápidos (SPZ R, %), velocidade curvilínea⁷⁷ (VCL, µm/s), velocidade linear (VSL, µm/s), velocidade média (VAP, µm/s), linearidade (LIN, %), coeficiente de retilinearidade (STR, %), oscilação média da trajetória espacial (WOB, %), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH, µm), frequência de batimento cruzado (BCF, Hz). Espermatozoides com VAP < 10 µm/s foram considerados imóveis, com > 25 µm/s médios e > 50 µm/s rápidos (Quadro 01).

Quadro 01. Descrição detalhada dos parâmetros e suas respectivas características aferidas pelo software Computer Assisted Sperm Analysis – CASA.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICAS
Motilidade Total (MOT, %)	Percentagem de espermatozoides móveis, ou seja, a proporção de espermatozoides na amostra que estão se movendo, seja de forma progressiva ou não.
Motilidade Progressiva (MP, %)	Percentagem de espermatozoides progressivos, que se refere à proporção de espermatozoides que se movem de forma progressiva em uma trajetória reta.
Espermatozoides Rápidos (SPZ R, %)	Percentagem de espermatozoides rápidos, indicando a proporção de espermatozoides que se movem a uma velocidade considerada rápida
Espermatozoides Médios (SPZ M, %)	Percentagem de espermatozoides médios, representando a proporção de que se espermatozoides. movem a uma velocidade considerada média
Espermatozoides Lentos (SPZ L, %)	Percentagem de espermatozoides lentos, indicando a proporção de espermatozoides que se movem a uma velocidade considerada lenta.
Velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$)	Velocidade curvilínea média, que é a velocidade média percorrida pelos espermatozoides ao longo de sua trajetória curvilínea medida ponto a ponto seguido pela célula.
Velocidade em linha reta (VSL, $\mu\text{m/s}$)	Velocidade em linha reta média, que é a velocidade média dos espermatozoides em uma linha reta.
Velocidade da amplitude da trajetória (VAP, $\mu\text{m/s}$)	Velocidade média medida em linha reta do início ao fim do trajeto.
Linearidade (LIN, %)	Linearidade, que descreve o grau em que os espermatozoides se movem em uma trajetória reta em relação ao seu movimento total.
Retilinearidade (STR, %)	Retilinearidade, que indica o quão retilíneo é o movimento dos espermatozoides.
Índice de oscilação (WOB, %)	Oscilação da cabeça, que representa a amplitude do movimento da cabeça do espermatozoide enquanto ele se move.
Amplitude do deslocamento lateral de cabeça (ALH, μm)	Amplitude lateral da cabeça, que é a medida da amplitude do movimento lateral da cabeça do espermatozoide.
Frequência de batimento cauda (BCF, Hz)	Frequência batimento da cauda, que é a frequência com que a cauda do espermatozoide se move de um lado para o outro durante o movimento.

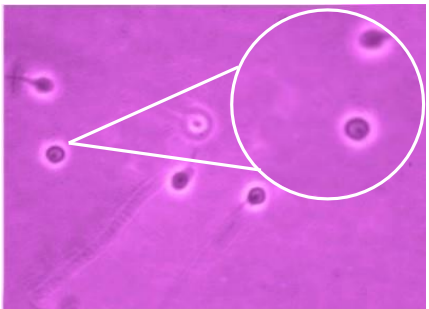
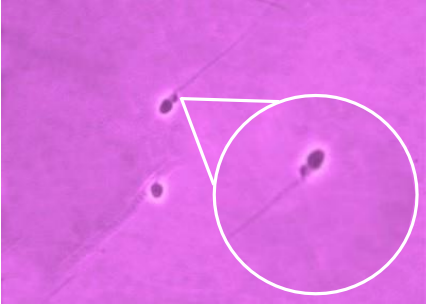
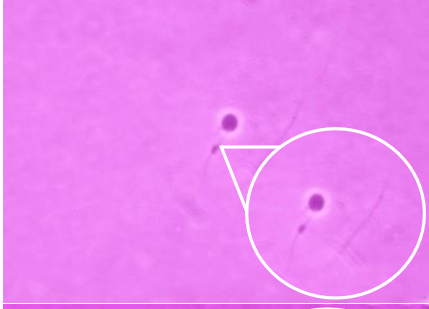
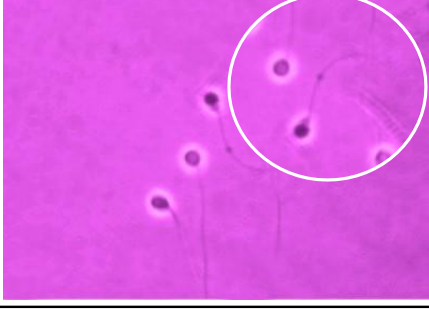
Para complementar, foi feita análise morfológica dos espermatozoides seguindo o proposto por Miliorini et al., (2011). O autor, classificou alterações nas células espermáticas de acordo com o grau de comprometimento, e as anomalias observadas foram separadas em dois grupos, as alterações primárias e secundárias (Quadros 02 e 03).

Quadro 02. Exemplo das anormalidades espermáticas primárias (20 µm)

Anomalias	Características	Estrutura
Macrocefalia	Cabeça ampla e formas arredondadas, as quais são consideradas normais quando não apresentam sinais evidentes de condensação anormal da cromatina.	
Degeneração da cabeça e peça intermediária	Alterações na largura, densidade, difração e/ou comprimento, envolvendo forma e conexão com a cabeça (pescoço). A cabeça (livre ou não) apresentando um contorno irregular ou aglomeração	
Cauda Fraturada	Extensão da cauda com uma fratura e retenção da porção final.	
Cauda em coto	Descontinuidade ou fratura na cauda, desde a peça intermediária até a extremidade distal, sem retenção da porção final.	
Cauda fortemente enrolada	A cauda enrolada em torno de si mesma ou ao redor da cabeça. Cauda fortemente dobrada, que poderia afetar consideravelmente a motilidade do espermatozoide	

Fonte: Miliorini et al., 2011 (Coloração alterada)

Quadro 03. Exemplo das anormalidades espermáticas secundárias (20 µm)

Anomalias	Características	Estrutura
Cabeça normal livre	Cabeça sem cauda, porém sem qualquer alteração	
Peça intermediária com gota citoplasmática proximal	Persistência de uma gotícula na peça intermediária do espermatozoide	
Cauda com gota citoplasmática proximal	Persistência de uma gotícula na cauda, exceto no peça intermediária	
Cauda com gota citoplasmática distal		

Fonte: Miliorini et al.,2011 (Coloração alterada)

Seguindo a metodologia usada por Streit-Junior et al., (2008), o sêmen de cinco animais de cada grupo foi fixado em solução de formol-salina proporção de 1:1000 (sêmen:fixador), corados com rosa bengala, na proporção de 1:10 (corante: sêmen) e após, 10 µl foi depositado em uma lâmina de vidro e cobertos com lamínula.

Foram feitas três réplicas de lâmina para cada animal, e analisados 100 células por lâmina, sendo a análise realizada com auxílio de microscópio Zeiss, acoplado a uma câmera AXIOCAM-MRc5, em ampliação de 1000X.

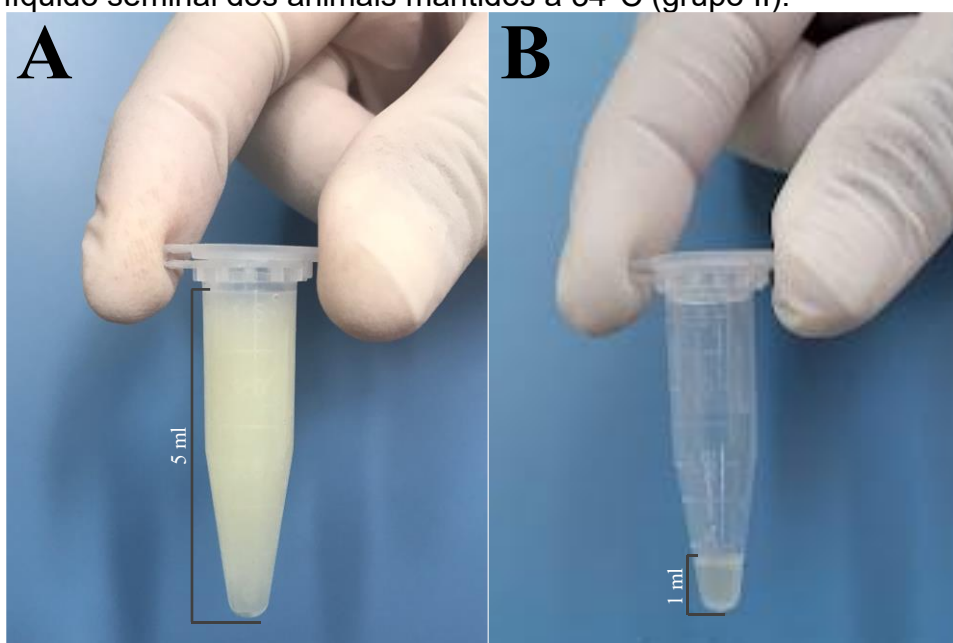
Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, com testes de normalidade, homogeneidade de variâncias, testes não paramétricos (Kruskal) e paramétricos (teste T) análise de componentes principais (PCA) sendo empregados para interpretação. A PCA permitiu a visualização da relação entre os parâmetros espermáticos analisados, identificando possíveis padrões nos dados e destacando a contribuição de cada parâmetro para a variação total dos dados e suas relações.

RESULTADOS

Com base nas análises dos resultados, após o período de exposição (822 dias), alterações significativas foram observadas entre os parâmetros avaliados nos animais expostos às duas condições térmicas. Os animais do grupo I, após o período de exposição, apresentou um sêmen de coloração branco leitosa, com aspecto levemente viscoso, já os animais do grupo II, apresentaram sêmen com coloração translúcida, branco opaco.

Figura 03. Demonstração da coloração e volumetria seminal de *Brycon orbignyanus*. **A**-coloração e quantidade (4 microtubos de 0,5 µl) de líquido seminal dos animais mantidos a 27°C (grupo I); **B**- coloração e quantidade de líquido seminal dos animais mantidos a 34°C (grupo II).



Estaticamente não foi observada alterações em relação a osmolalidade e pH seminal. No entanto, diferenças estatísticas foram observadas em relação ao volume seminal, concentração espermática, integridade de membrana e tempo de motilidade entre os tratamentos (Tabela 02).

Tabela 02. Características físico-químicas do sêmen de piracanjuba *B. orbignyanus* expostos às duas temperaturas, grupos I (27°C) e II (34°C).

	grupo I	grupo II
Volume Seminal (mL)	20 ± 2,5 ^a	1,33 ± 0,43 ^b
Tempo de Motilidade (s)	40,85 ± 3,96 ^a	31,13 ± 2,76 ^b
Osmolalidade (mOsmol/kg)	284,77 ± 13	265,77 ± 9,95
Concentração - (sptz.10 ⁹ /mL)	24,10 ± 5,2 x10 ^{9a}	13,30 ± 2,0 x10 ^{9b}
pH	7,11 ± 0,60	6,55 ± 0,72

Os resultados evidenciam que a exposição a 34°C teve um impacto na concentração de espermatozoides dos peixes ($13,30 \pm 2,00 \times 10^9$ sptz./mL), quando comparada ao grupo de controle mantido a 27°C ($24,10 \pm 5,27 \times 10^9$ sptz./mL). A disparidade nas médias sugere que o estresse térmico teve efeitos adversos consideráveis na capacidade reprodutiva dos animais submetidos a essa condição, refletindo em uma diminuição substancial na média de concentração de espermatozoides no grupo II, sujeito ao estresse térmico.

Os resultados estatísticos dos dados acima citados, refletem os mesmos padrões observados na análise de sobrevivência espermática. O percentual de células integras em relação a células com membrana rompida foi de $96 \pm 0,02\%$ e $4 \pm 0,02\%$ respectivamente para o grupo I, no caso animais mantidos a 27°C. Já o grupo II, com os peixes sendo mantidos a 34°C o percentual de células espermáticas com membranas integras foi de $86 \pm 0,07\%$ e $15 \pm 0,07\%$ de células com sua membrana danificada, sugerindo que o estresse térmico tem um impacto significativo tanto no volume seminal, na sobrevivência espermática, afetando significativamente a concentração e o tempo de motilidade.

Morfologia Espermática

Os resultados mostraram uma diferença significativa na morfologia espermática entre os grupos expostos a diferentes temperaturas (Tabela 03).

Tabela 03. Análise da normalidade morfológica dos espermatozoides do sêmen fresco de *Brycon orbignyanus* (n=05).

Morfologia espermática	Grupo I (27° C)	Grupo II (34° C)
Alterações primárias (%)	$53,4 \pm 15,9^a$	$80,3 \pm 6,8^b$
Alterações secundárias (%)	$5,4 \pm 2,7^a$	$6,3 \pm 2,0^a$
Defeitos totais (%)	$58,8 \pm 15,3^a$	$86,6 \pm 5,6^b$
Normal (%)	$41,2 \pm 15,2^a$	$13,4 \pm 5,7^b$

No animais mantidos no grupo I, durante o período experimental os danos primários corresponderam a 53,4%, enquanto para os animais mantidos no grupo II houve um aumento significativo para 80,3%. Já em relação aos danos

secundários, não houve uma diferença significativa entre os dados avaliados dos dois grupos, com valores em torno de 5,4% a 6,3% respectivamente.

Tratando-se dos defeitos espermáticos totais (%), os espermatozoides dos peixes do grupo II, resultaram em um aumento substancial, alcançando 86,6%, em comparação com os 58,8% observados a o grupo I. Já em relação a porcentagem de espermatozoides normais, observamos uma diminuição drástica de 41,2% para os animais no grupo I em relação ao grupo II, que apresentou um percentual de apenas 13,4% de células dentro do esperado. Esses resultados sugerem que o estresse térmico agudo a 34°C teve um impacto significativo na morfologia espermática dos peixes, aumentando a ocorrência de danos primários e diminuindo a proporção de espermatozoides normais.

Análise espermática computadorizada

Os resultados das variáveis analisadas pelo software “Computer Assisted Sperm Analysis” - CASA, evidenciaram que a avaliação entre amostras do grupo I e grupo II, não apresentaram diferença estatística significativa para a Motilidade total (MOT, %). Isso foi observado para a velocidade curvilinear (VCL, $\mu\text{m/s}$), oscilação média da trajetória espacial (WOB, %), frequência de batimentos cruzados (BCF, Hz), assim como, para a amplitude de deslocamento lateral da cabeça dos espermatozoides (ALH, $\mu\text{m/s}$), que também não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos avaliados (Tabela X).

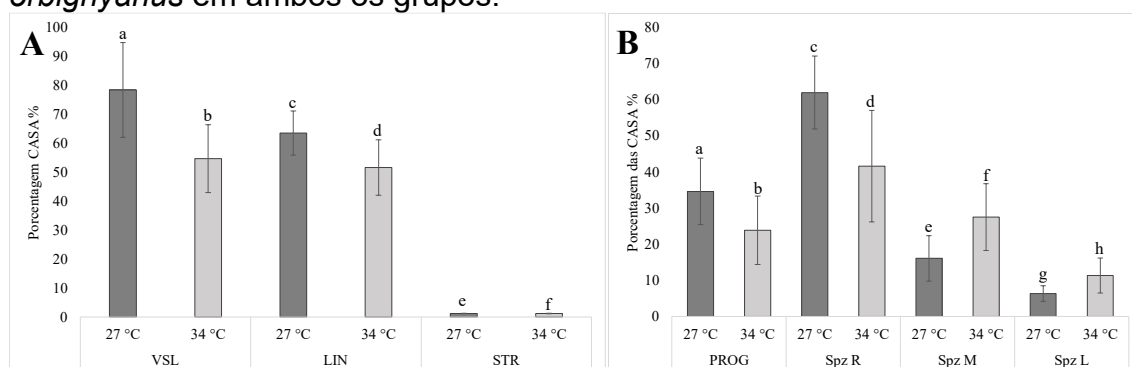
No entanto, para a motilidade progressiva - PROG ($34,63 \pm 9,19\%$ e $23,86 \pm 9,45\%$), e parâmetros específicos relacionados à motilidade dos espermatozoides, como a porcentagem de espermatozoides rápidos - SPZ R ($62 \pm 10,10\%$ e $41,63 \pm 15,43\%$), médios-SPZ M ($16,09 \pm 6,30\%$ e $27,51 \pm 9,27\%$) e lentos-SPZ L ($6,33 \pm 2,17\%$ e $11,33 \pm 4,85\%$), bem como os coeficientes de linearidade - LIN ($63,46\% \pm 7,59$ e $51,56 \pm 9,53\%$), retilinearidade - STR ($68,48 \pm 6,92\%$ e $56,72 \pm 9,56\%$) e velocidade em linha reta – VSL ($78,33 \pm 16,33\ \mu\text{m/s}$ e $54,65 \pm 11,72\ \mu\text{m/s}$) apresentaram diferenças significativas entre os respectivos grupos (Tabela. 04).

Tabela 04. Dados retirados do software “Computer Assisted Sperm Analysis” referente a avaliação dos parâmetros espermáticos da espécie *Brycon orbignyanus* em ambos os grupos.

Parâmetros Cinéticos	Grupos	
	Grupo I (27 °C)	Grupo II (34 °C)
MOT (%)	84,42 ± 4,94 ^a	80,49 ± 8,98 ^a
MP (%)	34,63 ± 9,19 ^a	23,86 ± 9,45 ^b
SPZ R (%)	62 ± 10,10 ^a	41,63 ± 15,43 ^b
SPZ M (%)	16,09 ± 6,30 ^a	27,51 ± 9,27 ^b
SPZ L (%)	6,33 ± 2,17 ^a	11,33 ± 4,85 ^b
VCL (µm/s)	122,58 ± 14,42 ^a	107,94 ± 26,12 ^a
VSL (µm/s)	78,33 ± 16,33 ^a	54,65 ± 11,72 ^b
VAP (µm/s)	113,51 ± 14,13 ^a	98,07 ± 23,65 ^a
LIN (%)	63,46 ± 7,59 ^a	51,56 ± 9,53 ^b
STR (%)	68,48 ± 6,92 ^a	56,72 ± 9,56 ^b
WOB (%)	92,54 ± 2,04 ^a	90,77 ± 3,44 ^a
ALH (µm)	1,20 ± 0,07 ^a	1,23 ± 0,12 ^a
BCF (Hz)	14,54 ± 0,76 ^a	14,64 ± 0,76 ^a

MOT: Motilidade Total; PROG: Motilidade Progressiva; SPZ R: Espermatozoides Rápidos; SPZ M: Espermatozoides Médios; SPZ L: Espermatozoides Lentos; VCL: Velocidade Curvilínea; VSL: Velocidade Linear; VAP: Velocidade Média; LIN: Coeficiente de Linearidade; STR: Coeficiente de Retilinearidade; WOB: Oscilação Média da Trajetória Espacial; BCF: Frequência de Batimentos Cruzados; ALH: Amplitude de deslocamento Lateral da Cabeça.

Figura 04. Dados retirados do software “Computer Assisted Sperm Analysis” referente a avaliação dos parâmetros espermáticos da espécie *Brycon orbignyanus* em ambos os grupos.



Esses resultados sugerem que o estresse térmico afetou principalmente aspectos específicos da motilidade dos espermatozoides, como a PROG, e os diferentes tipos de velocidade de movimento, enquanto outros aspectos, como a

MOT e características da trajetória do movimento, não foram significativamente afetados. Esses resultados sugerem que os gametas dos peixes expostos ao estresse térmico podem apresentar uma capacidade de movimentação progressiva comprometida quando comparamos com as características dos espermatozoides dos peixes mantidos na temperatura de conforto.

Os resultados da análise de componentes principais (PCA), mostram a distribuição dos dados ao longo dos componentes principais, destacando a variabilidade e as relações entre as variáveis analisadas. Através do gráfico (Figura 05), é possível observar a separação dos grupos de acordo com o tratamento aplicado, com a inclusão de elipses para destacar a dispersão dos dados e as tendências encontradas.

O gráfico mostra que a temperatura da água afete diretamente a motilidade dos espermatozoides. Por exemplo, o grupo I mantido a 27°C, apresentou uma motilidade espermática mais estável e eficiente em comparação com o grupo II mantido a 34°C, onde a temperatura elevada resultou em um efeito negativo na motilidade, levando a uma dispersão dos dados ao longo dos componentes principais. As características morfológicas e funcionais do espermatozoide, como tamanho, forma, velocidade e agilidade (VCL, VSL, VAP, etc.), também podem ser influenciadas pela temperatura da água. Por exemplo, a temperatura mais alta pode causar alterações na estrutura e na função dos espermatozoides, levando a uma maior variabilidade nos dados e à separação dos grupos no gráfico.

Portanto, as tendências observadas na análise de componentes principais refletem as diferenças nas respostas dos espermatozoides às condições de temperatura da água entre os grupos destacando a importância desse fator ambiental na qualidade e no comportamento dos espermatozoides em animais aquáticos.

Figura 05. Gráfico da análise dos componentes principais (PCA), do sêmen de *B. orbignyanus*. Grupo C (bolinha avermelhada), animais mantidos a 27°C (grupo I); Grupo T (triângulo azul), animais mantidos a 34°C.

DISCUSSÃO

Com base nos resultados observados, após o período de exposição (822 dias) às diferentes condições térmicas, em relação aos parâmetros seminais do sêmen de *Brycon orbignyanus* mantidos no grupos I (27°C) e no grupo II (34°C), podemos associar a um comprometimento em escalas anteriores, no caso ainda na espermatogênese. Hani e colaboradores (2019), demonstraram os efeitos crônicos da exposição a diferentes temperaturas, em machos de *Gasterosteus aculeatus*, onde os valores do índice gonadosomático em machos mostrou variações significativas em relação às condições de exposição. Resultados semelhantes também foram observados em *Daphnia magna* considerando temperatura estressantes (NA et al., 2021).

Complementar a estas afirmações padrões semelhantes de comprometimento da suade reprodutiva foi observado em *A. lacustris* (SIQUEIRA-SILVA et al., 2015; QUIRINO et al., 2021), *Lota lota* (ASHTON et al., 2019) e *Oncorhynchus mykiss* (BUTZGE et al., 2021). Esses resultados nos mostram que, tratando-se de parâmetros espermáticos e qualidade seminal, aspectos precedentes, como alterações na saúde reprodutiva e no desenvolvimento gonadal devem ser considerados (ALIX et al., 2020).

A redução expressiva em relação ao volume seminal em *Brycon orbignyanus*, ampliam nossa compreensão dos impactos ambientais na saúde reprodutiva das espécies aquáticas, levando a uma redução no volume seminal, como observado em *Salmon salar*, onde temperaturas elevadas resultaram em efeitos deletérios sobre estes processos, levando a uma redução do volume seminal (VIKINGSTAD et al., 2016).

A coloração e a consistência do sêmen são características resultantes de respostas a condições adversas (VALDEBENITO et al., 2013). No grupo exposto a 34°C, a coloração translúcida e a opacidade branca indicam uma menor concentração espermática, como constatado com os valores do presente estudo (grupo II – $24.10 \pm 5.2 \times 10^9$ / grupo II – $13.30 \pm 2.0 \times 10^9$), essas afirmações são baseadas em estudos que comprovam que a coloração voltada para o branco leitoso, assim como maior viscosidade, são aspectos que indicam concentrações mais significativas de espermatozoide no liquido seminal (TORRES et al., 2014; BUSTAMANTE-GONZÁLEZ et al., 2018; QUISPE et al., 2021).

De fato, as diferenças estatísticas apresentadas entre os parâmetros avaliados nos peixes expostos aos dois grupos (27°C e 34°C), são respostas ou estresse causados pelo aumento. Mecanismos como apoptose, reduz o percentual sobrevivência dos espermatozoides (CASTRO et al., 2020; CASTRO et al., 2024), alterações na integridade do DNA (KOWALSKI, CEJKO, 2019), assim como modificações na composição bioquímica do plasma seminal (PIIRONEN, HYVÄRINEN, 1983; LUQUET, WATANABE, 1986; DZIEWULSKA 2020), podem contribuir para uma diminuição na fertilidade dos peixes expostos a condições de estresse térmico (ALIX et al., 2020). A exemplo, recentemente foi constatado que a exposição a curtos período em temperatura a 35°C, 1°C a mais que a temperatura testada em nosso trabalho (34°C), a observado que qualidade seminal foi comprometida, causando danos a tanto na motilidade, como na morfologia, metabolismo, além de causar danos oxidativos (CASTRO et al., 2024).

Os resultados da análise de morfologia espermática mostram uma correlação com os dados de motilidade progressiva dos espermatozoides. No grupo I, exposto a 34°C, onde houve um aumento significativo nos danos primários ($80,3 \pm 6,8\%$) e total de defeitos espermáticos ($86,6 \pm 5,6\%$), com uma redução drástica na porcentagem de espermatozoides normais (grupo I: $41,2 \pm 15\%$ / grupo II: $13,4 \pm 5,7\%$). A diminuição na porcentagem de espermatozoides normais implica em uma redução na qualidade do sêmen, o que pode ter consequências negativas na fertilização e na capacidade reprodutiva dos peixes.

Associando esses resultados a motilidade progressiva dos espermatozoides observamos uma redução significativa na motilidade destes com os animais no grupo I apresentando uma média de motilidade progressiva de cerca de $34,63 \pm 9,1\%$, enquanto o grupo II apresentou uma média de $23,86 \pm 9,45\%$. Esses parâmetros uma vez comprometidos, interferem diretamente na qualidade seminal (DZIEWULSKA, 2020), pois tanto a motilidade, como às velocidades dos espermatozoides, sendo essenciais para o sucesso reprodutivo (LINHART et al., 1999; ALAVI et al., 2019; PINHEIRO et al., 2021; MERINO et al., 2024).

Assim como em *Brycon orbignyanus*, danos estruturais às células espermáticas (macrocefalia, degeneração na cabeça e alterações na cauda), também foram observadas em *C. macropomum* alterações morfológicas nos

espermatozoides expostos à temperatura elevada (CASTRO et al., 2024), indicando que altas temperaturas levam em uma diminuição na capacidade dessas células de se movimentarem de forma progressiva e eficiente.

Coletivamente estas informações indicam um impacto negativo das altas temperaturas na qualidade e funcionalidade dos gametas nos peixes expostos a condições de estresse térmico agudo. Alterações acima dos limites térmicos críticos, podem afetar diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-gônada levando a comprometimento nas funções fisiologia (ALIX, et al.,2020). A viabilidade espermática é fundamental para a fertilização bem-sucedida (HAYATI et al., 2019), com a redução na motilidade progressiva espermática, alterações na morfologia dos espermatozoide e a diminuição na concentração de espermatozoides, como resposta ao aumento da temperatura, são fatores que provavelmente afetariam ou inviabilizariam o processo fertilização diante desse cenário.

As características cinéticas afetadas, como a porcentagem de espermatozoides SPZ R ($62 \pm 10,10\%$ / $41,63 \pm 15,43\%$), SPZ M ($16,09 \pm 6,30\%$ / $27,51 \pm 9,27\%$) e SPZ L ($6,33 \pm 2,17\%$ / $11,33 \pm 4,85\%$), assim como concentração de espermatozoides por unidade de volume são preocupantes, pois temperaturas mais altas levam a uma diminuição da longevidade, como da velocidade dos espermatozoides, uma vez que ocorre uma exaustão metabólica mais rápida, devido ao aumento da atividade celular e do consumo de energia (COSSON, 2004; DZYUBA, COSSON, 2014).

Devemos considerar que o sucesso da fertilização, assim como as taxas de eclosão e a motilidade espermática tem uma correlação com a velocidade de linha reta (VSL), a velocidade curvilínea (VCL) e a velocidade média progressiva (VAP), pois estes parâmetros estão de velocidade estão intimamente ligados à qualidade do flagelo do espermatozoide (GALLEGO et al., 2017). Os resultados do VCL (grupo I: $78,33 \pm 16,33 \mu\text{m/s}$; grupo II: $54,65 \pm 11,72 \mu\text{m/s}$) e VAP (grupo I: $113,51 \pm 14,13 \mu\text{m/s}$; grupo II: $98,07 \pm 23,65 \mu\text{m/s}$) desses para a espécie *B. orbignyanus* são preocupantes, e requerem estudos mais aprofundados

Constatou-se ainda que temperatura comprometeu a morfologia espermática (LIN, STR, WOB), a cabeça do espermatozoide (ALH) e o fator de compactação da cromatina (BCF). Essas hipóteses fornecem insights valiosos

sobre como a interação entre tempo e temperatura influenciou os parâmetros espermáticos dos peixes analisados.

CONCLUSÃO

A interação entre tempo e temperatura influencia significativamente os parâmetros espermáticos dos peixes analisados, incluindo morfologia espermática, motilidade e velocidade dos espermatozoides.

Altas temperaturas levam à redução na motilidade progressiva e na velocidade dos espermatozoides, impactando negativamente na qualidade seminal e na fertilização.

Danos estruturais nas células espermáticas foram observados em peixes expostos a temperaturas elevadas, indicando uma diminuição na capacidade de movimento eficiente.

A viabilidade espermática é crucial para a fertilização bem-sucedida, sendo afetada por alterações na motilidade, na morfologia dos espermatozoides e na concentração espermática em resposta ao aumento da temperatura.

Em suma, a exposição prolongada a temperaturas elevadas impactou significativamente os parâmetros seminais e a qualidade reprodutiva dos peixes analisados. Isso incluiu redução na motilidade progressiva, alterações na morfologia espermática e diminuição na viabilidade espermática, fatores críticos para o sucesso da fertilização. Esses resultados destacam a sensibilidade dos gametas dos peixes à variação térmica e ressaltam a importância de considerar os efeitos do estresse térmico na saúde reprodutiva das espécies aquáticas.

REFERÊNCIAS

- ALAVI, S. M. H; BONDARENKO, J. C. O; LINHART, O. Sperm motility in fishes: (III) Diversity of regulatory signals from membrane to the axoneme. **Theriogenology**, v. 136, p. 143-165, 2019.
- ALIX, M.; KJESBU, O. S.; ANDERSON, K. C. From Gametogenesis to Spawning: How Climate-driven Warming Affects Teleost Reproductive. **Biology Journal Fish Biology**, v. 97, p. 607–632, 2020.
- ASHTON, N. K; JENSEN, N. R; ROSS, T. J; YOUNG, S. P; HARDY, R. S; CAIN, K. D. Temperature and Maternal Age Effects on Burbot Reproduction. **North American Journal of Fisheries Management**, p. 1-15, 2019.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2º edição, Editora UFSM, 2009.
- BUSTAMANTE-GONZÁLEZ, J. D; CORTÉS-GARCÍA, A; RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ, M. Crecimiento y calidad espermática en trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Teleostei: Salmonidae) durante la temporada reproductiva. **Hidrobiológica**, v. 28, p. 1, p. 163-170, 2018.
- BUTZGE, A. J.; YOSHINAGA, T. T.; ACOSTA, O. D. M.; FERNANDINO, J. I.; SANCHES, E. A.; TABATA, Y. A.; DE OLIVEIRA, C.; TAKAHASHI, N. S.; HATTORI, R. S. Early warming stress on rainbow trout juveniles impairs male reproduction but contrastingly elicits intergenerational thermotolerance. **Scientific Reports**, v. 11, p. 17053, 2021.
- CARNEIRO-LEITE, L; C; OLIVEIRA, Y. A. A; SANCHEZ, M. P; BORGES, L. P; GOMES-SILVA, L; LOBATO, S. I. R; RODRIGUES-LISONI, F. C; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R; NINHAUS-SILVEIRA, A. Seminal characteristics and sensitivity of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) sperm to cryoprotective solutions based on dimethylsulfoxide and methylglycol. **Neotropical Ichthyology**, v. 18, p. 1-20, 2020.
- CASTRO, J. S; SANTOS, F. B. P; COSTA, J. C; VAL, A. L. In vivo exposure to high temperature compromises quality of the sperm in *Colossoma macropomum* **Animal Reproduction Science**, v. 262, p. 107412, 2024.
- CASTRO, J.S.; BRAZ-MOTA, S.; CAMPOS, D.F.; SOUZA, S.S.; VAL, A.L. High temperature, pH, and hypoxia cause oxidative stress and impair the spermatogenic performance of the amazon fish *Colossoma macropomum*. **Frontiers in Physiology**. v. 11, 2020.
- CEJKO, B. I; JUDYCKA, S; KUJAWA, R. The effect of different ambient temperatures on river lamprey (*Lampetra fluviatilis*) egg and sperm production under controlled conditions. **Journal of Thermal Biology**, v. 62-A, p. 70-75, 2016.

COSSON, J. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. **Aquaculture International** v. 12, p. 69–85, 2004.

DAHLKE, F. T; WOHLRAB, S; BUTZIN, M; PÖRTNER, H. O. Climate Responses: Thermal bottlenecks in the life cycle define climate vulnerability of fish. **Science**, v. 369, p. 65–70, 2020.

DZIEWULSKA, K. Effect of pH, osmolality and ion concentration on spermatozoa motility and composition parameters of sperm and seminal plasma in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). **Aquaculture**, v. 520, p. 735004, 2020.

DZYUBA, V; COSSON, J. Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella response. **Reproductive Biology**, p. 1-11, 2014.

FENKES, M; FITZPATRICK, J. L; OZOLINA, K; SHIELS, H. A; NUDDS, R. L. Sperm in hot water: direct and indirect thermal challenges Interact to impact on brown trout sperm quality. **Journal of Experimental Biology**, v. 220, p. 2513-2520, 2017.

FENKES, M; FITZPATRICK, J. L; SHIELS, H. A; NUDDS, R. L. Acclimation temperature changes spermatozoa flagella length relative to head size in brown trout. **Biology Open**, v. 8, p. bio039461, 2019.

FERNANDES, J. F. F; FRANÇA, C. L; SANTANA, T. C; LOBATO, R. S; TEIXEIRA, E. G. Contribuição técnica sobre a identificação de anomalias espermáticas no sêmen in natura de curimatã, *Prochilodus lacustris* Steindachner, 1907. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 10418-10431, 2020.

GASPARINI, C; MARINO, I. A. M; BOSCHETTO, C; PILASTRO, A. Effect of male age on sperm traits and sperm competition success in the guppy (*Poecilia reticulata*). **Journal Compilation: European Society or Evolutionary Biology**, v. 23, p. 124–135, 2010.

HANI, Y. M. I; TURIES, C; PALLUEL, O; DELAHAUT, L; BADO-NILLES, A; GEFFARD, A; DEDOURGE-GEFFARD, O; PORCHER, J. M. Effects of a chronic exposure to different water temperatures and/or to an environmental cadmium concentration on the reproduction of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 48-57, 2019.

HAYATI, A; WULANSARI, E; ARMANDO, D. S; SOFIYANTI, A; AMIN, M. H. F; PRAMUDYA, M. Effects of in vitro exposure of mercury on sperm quality and fertility of tropical fish *Cyprinus carpio* L. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 45, p. 189-195, 2019.

HERMAN, H. A.; MITCHELL, J. R.; DOAK, G. A. The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle (including information pertaining to goats, sheep, horses, swine, and other animals): a handbook and laboratory manual for students, herd operators, and persons involved in genetic improvement. 1994.

KHOLODNYY, V; GADELHA, H; COSSON, J; BORYSHPOLETS, S. How freshwater fish sperm find the egg? The physicochemical factors guiding the gamete encounters of externally fertilizing freshwater fish. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 1165–1192, 2020.

KOWALSKI, R. K; CEJKO, B. I. Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. **Theriogenology**, v. 135, p. 94-108, 2019.

LINHART, O; WALFORD, J; SIVALOGANATHAN, B; LAM, T.J. Effects of osmolality and ions on the motility of stripped and testicular sperm of freshwater- and seawater-acclimated tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Journal of Fish Biology**, v. 55, p. 1344–1358, 1999.

LUO, S; JIN, S; SU, L; WANG, J. Effect of water temperature on reproductive performance and Offspring quality of rare minnow, *Gobiocypris rarus*. **Journal of Thermal Biology**, v. 67, p. 59-66, 2017.

LUQUET, P; WATANABE, T. Interaction "nutrition-reproduction" in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 2, p. 121-129, 1986.

MERINO, O; FIGUEROA, E; VALDEBENITO, I; RISOPATRÓN, J; MERINO, M; FARÍAS, J. G. Change in the swimming pattern of *Salmo salar* spermatozoa caused by the high temperature of the sperm motility activation médium. **Theriogenology**, v. 219, p. 49-58, 2024.

MIRANDA, L. A; CHALDE, T; ELISIO, M; STRÜSSMANN, C. A. Effects of global warming on fish reproductive endocrine axis, with special emphasis in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 192, p. 45–54, 2013.

MONTANARI, T. Gametogênese. In: Embrilogia: Textos, atlas e roteiro de aulas práticas. p. 7-33, 2013.

NA, J; KIM, Y; SONG, J; SHIM, T; CHO, K; JUNG, J. Evaluation of the combined effect of elevated temperature and cadmium toxicity on *Daphnia magna* using a simplified DEBtox model. **Environmental Pollution** v. 291, p. 118250, 2021.

NOWOSAD, J; TARGOŃSKA, K; CHWALUCZYK, R; KASZUBOWSKI, R; KUCHARCZYK, D. Effect of temperature on the effectiveness of artificial reproduction of dace [Cyprinidae (*Leuciscus leuciscus* (L.))] under laboratory and field. **Journal of Thermal Biology**, v. 45, p. 62–68, 2014.

PIIRONEN, J; HYVARINE, H. Composition of the milt of some teleost fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 22, p. 351-361, 1983.

PINHEIRO, J. P. S; LIMA, J; ASSIS, C. B; BRANCO, G. S; GOMES, A. D; MOREIRA, R. G. Paternal exposure to aluminum, acidity, and temperature affect fatty acid seminal profile, embryonic and larval development of *Astyanax altiparanae*. **Chemosphere**, v. 266, p. 1-11, 2021.

PORTELLA, A. C.; ARSENTALES, A. D.; CAVALLARI, D. E.; SMITH, W. S. Efeito da sazonalidade na reprodução de peixes Characiformes em um rio Neotropical. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 111, p. 1-9, 2021.

PRADO-LIMA, M.; VAL, A. L. Transcriptomic Characterization of Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) Exposed to Three Climate Change Scenarios. **Plos One**, v. 11, p. 1-21, 2016.

QUIRINO, P. P.; SILVA, R. M.; SILVA, C. L. E. M.; SIQUEIRA-SILVA, D. H., MORI, R. H., BUTZGE, A. J.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 747-755, 2021.

QUISPE, Y. M.; QUISPE, C. B.; HUANCA, F. R.; CALLOAPAIZA, D. R.; GUERRA, U. P.; ARANÍBAR, M. A.; DURAND, M. P. Influencia de La Temperatura de Congelacion en la Calidad de Semen de Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus Mykiss*). **Spermova**, v. 11, n. 2, p. 159-165, 2021.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, v.8, p.58-61, 2012.

SHAHJAHAN, M. D.; KITAHASHI, T.; ANDO, H. Temperature affects sexual maturation through the control of kisspeptin, kisspeptin receptor, GnRH and GTH subunit gene expression in the grass puffer during the spawning season. **General and Comparative Endocrinology**, v. 243, p. 138-145, 2017.

SIQUEIRA-SILVA, DH.; SANTOS, SILVA.; AP, NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The effects of temperature and busulfan (Myleran) on the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) spermatogenesis. **Theriogenology**, v. 84, p. 1033 -1042, 2015.

SMALE, D. A.; WERNBERG, T.; OLIVER, E. C.; THOMSEN, M.; HARVEY, B. P.; STRAUB, S. C.; MOORE, P. J. Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. **Nature Climate Change**, v. 9, p. 306-312, 2019.

TEIXEIRA, C. P.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; FERNANDES, A. C.; JR; KOCH J. F. A.; PADOVANI, C. R. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and haematological response under heat stress. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 8, p. 1-8, 2012.

TORRES, G. J. M.; MAÍZ, P. R. A.; CASTELLANO, R. J. J. Aspectos de la producción anual de semen de trucha arco iris (*Oncorhynchus my kiss*) en los Andes tropicales venezolanos. **Mundo Pecuário**, v. 1, p. 9-14, 2014.

URBAN, M.C. Accelerating extinction risk from climate change. **Science**, v. 348, p. 571–573, 2015.

VAGNER, M; ZAMBONINO-INFANTE J. L; MAZURAS, D. Fish facing global change: are early stages the lifeline? **Marine Environmental Research**, v. 147, p. 159-178, 2019.

VALDEBENITO, I. I; GALLEGOS, P. C; EFFER, B. R. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. **Zygote**, p. 1-21, 2013.

VIKINGSTAD, E; ANDERSSON, E; HANSEN, T. J; NORBERG, B; MAYER, I; STEFANSSON, S. O; FJELLDAL, P. G; TARANGER, G. L. Effects of temperature on the final stages of sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 895–907, 2016.

WEN, B; JIN, S. R; CHEN, Z. Z; GAO, J. Z; WANG, L; LIU, Y; LIU, H. P. Plasticity of energy reserves and metabolic performance of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) exposed to low-temperature stress. **Aquaculture**, v. 481, p. 169-179, 2017.