

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 31/07/2019.



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

As implicações da elevação da temperatura na duração da espermatogênese em
Astyanax altiparanae (Characiformes, Characidae)

Patricia Postingel Quirino

Botucatu – SP
2017



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

As implicações da elevação da temperatura na duração da espermatogênese em
Astyanax altiparanae (Characiformes, Characidae)

Patricia Postingel Quirino

Orientadora: Prof^a Dr^a Rosicleire Veríssimo Silveira

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

Botucatu – SP
2017

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

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Quirino, Patricia Postingel.

As implicações da elevação da temperatura na duração da espermatogênese em *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae) / Patricia Postingel Quirino. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira

Capes: 20400004

1. *Astyanax* (Peixe) - Reprodução. 2. Lambari (Peixe) - Reprodução. 3. Bromodesoxiuridina. 4. Espermatogônias. 5. Espermatogênese.

Palavras-chave: Bromodeoxiuridina; Espermatogônias; Lambari; Reprodução.

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

Aos 31 dias do mês de julho do ano de 2017, às 14:00 horas, no(a) Sala de Vídeo Conferência 02 (ADM) - Campus Central/Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA - Orientador(a) do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Prof. Dr. EDSON GUILHERME VIEIRA do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Prof. Dr. DANIELA CARVALHO DOS SANTOS do(a) Departamento de Morfologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP (através de Videoconferência), sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de PATRICIA POSTINGEL QUIRINO, intitulada As implicações da elevação da temperatura na duração da espermatogênese em *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae).

Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA



Prof. Dr. EDSON GUILHERME VIEIRA



Prof. Dr. DANIELA CARVALHO DOS SANTOS



Dedico este trabalho ao capricorniano mais teimoso e paciente que eu conheço, meu pai, Luiz Antônio; à canceriana mais dramática e amorosa do mundo, minha mãe, Rozângela; ao libriano mais justo e leal de todos, meu irmão, Luiz Fernando. Aos amores da minha vida!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e aos bons espíritos por sempre me acompanharem;

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por todas as oportunidades;

Aos funcionários da Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, por todo apoio;

Aos membros desta banca, obrigada por terem aceitado o convite e principalmente por contribuírem com o meu trabalho;

A CAPES - Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior – pela bolsa de estudos concedida;

A minha orientadora e minha mãe científica, Rosicleire Veríssimo Silveira, por cada ensinamento, cada palavra de apoio ou bronca, quando foram necessárias. Obrigada por ser parte fundamental da minha vida e por ser muito mais do que uma orientadora;

Ao meu professor e pai científico, Alexandre Ninhaus Silveira, por me mostrar – mesmo sem ter notado – que a vida pode ser difícil e mesmo assim ser leve e feliz! Obrigada, por ser, junto com a Rosi, muito mais do que professores, mas companheiros para o resto da vida;

Aos meus pais, Luiz Antônio Quirino e Rozângela Postingel Quirino, por absolutamente tudo. Mesmo com toda riqueza e beleza da Língua Portuguesa, desconheço palavras que possam definir o que vocês são para mim. Acredito que tudo pode ser resumido em “AMO VOCÊS” e tudo isso é POR VOCÊS;

Ao meu irmão, Luiz Fernando Postingel Quirino, por ser um exemplo de lealdade, justiça e amizade;

A minha prima-irmã, Ana Caroline Postingel Zuccolin, que mesmo distante fisicamente, esteve presente o tempo todo. Obrigada por dividir tristezas, rir das minhas compras (que não deveriam ter sido feitas) e por seguir a vida comigo;

A Silvia Adriana, que entrou nas nossas vidas pra trazer alegria, agradeço por toda ajuda neste ano que passou conosco. Sua presença tornou os dias mais coloridos e brandos;

A todos os meus amigos, que me acolheram no coração, me guardaram na vida e me amam sem cobrança. Por que algumas vezes, a distância e ausência se fazem presentes, e mesmo assim, estão sempre comigo. Em especial, agradeço a Paula Carneiro, Paula Araújo, Heloísa, Jéssica, Lorena, Mariana, Mariane, Vanessa, Nina, Tuty, Giovana, Jaqueline Queiroz, Mayara Ribeiro, Jaqueline Ramos, Bianca de Freitas, Ronaldo, Lumena e Ricardo Almeida. *“Os laços do corpo formam famílias consanguíneas, mas os laços do sentimento formam famílias espirituais”* (Gabriel Martins, 2011);

Aos meus companheiros de laboratório, por cada ajuda, cada aprendizado, cada ação em conjunto, este trabalho tem um pedacinho de vocês. Um agradecimento especial a Diógenes, Maira, Raphael, por sempre me darem uma mãozinha científica; a Amanda, Geovanna, Cris e Elis por serem as melhores companhias que eu poderia ter ao longo do mestrado, por aguentarem as minhas cantorias, meu gosto musical extremamente peculiar, por rirem das minhas gracinhas e, principalmente, por terem se tornado parte da minha família, amo vocês;

Aos funcionários do Departamento de Biologia e Zootecnia – FEIS, Meire, Vera, Júnior, Wilder e Sidival por todo papo informal e por todas as vezes que me socorreram;

Ao doutorando Arno Butzge e ao Prof. Dr. Rafael Henrique Nóbrega pela ajuda nos procedimentos de imunodeteção, por todo conhecimento passado e pelas ótimas conversas informais;

A Giovana Branco, por todas as recepções calorosas, pelo carinho, atenção e amizade sincera;

Aos mestres da MPB, que já se foram e aos que estão vivos, e mesmo sabendo que jamais verão este agradecimento, não poderia deixar de fazê-lo, tendo em vista que estiveram comigo ao longo de todo esse trabalho;

A cada pessoa que cruzou com os meus passos, aquelas que permaneceram na minha vida e aquelas que foram embora por algum motivo, minha história é escrita com cada um de vocês! OBRIGADA!

Há um menino
Há um moleque
Morando sempre no meu coração
Toda vez que o adulto balança
Ele vem pra me dar a mão

Há um passado no meu presente
Um sol bem quente lá no meu quintal
Toda vez que a bruxa me assombra
O menino me dá a mão

E me fala de coisas bonitas
Que eu acredito
Que não deixarão de existir
Amizade, palavra, respeito
Caráter, bondade alegria e amor

Milton Nascimento

RESUMO

Frente ao cenário de mudanças climáticas estabelecidas e consequentemente às alterações da temperatura global, torna-se essencial estudar os seus efeitos na espermatogênese dos animais. Sendo assim, objetivou-se caracterizar morfológica e estereologicamente os tipos celulares encontrados na espermatogênese do lambari *Astyanax altiparanae*, além de determinar as fases testiculares e a verificar a duração da espermatogênese em diferentes temperaturas. Para tal, noventa e seis espécimes machos e adultos de *A. altiparanae* foram mantidos em sistema de circulação fechada sob temperatura da água estabilizada à 27°C (temperatura de conforto) e 32°C. Posteriormente, os espécimes receberam pulsos de BrdU (bromodeoxiuridina) na concentração de 100 mg/Kg/dia por 2 dias consecutivos, sendo as coletas realizadas diariamente por um período de 15 dias. Os testículos foram removidos, fixados, processados, incluídos em historesina e seccionados a 3µm, submetidos a colorações de Hematoxilina/Eosina e a técnicas de imunodeteção de BrdU. Os resultados obtidos a partir da temperatura de conforto da espécie permitiram classificar as espermatogônias de *A. altiparanae* em A-indiferenciadas*, A-indiferenciadas, A-diferenciadas e espermatogônias B. Assim como, caracterizar o ciclo reprodutivo da espécie em Regredido, Maturação Inicial, Maturação Intermediária, Maturação Final e em Regressão. A duração da espermatogênese foi determinada em aproximadamente seis dias para animais em 27°C e um dia para animais em 32°C. A temperatura elevada também foi responsável por aumento de proliferação celular em cistos de espermátides, em espermatozoides e células em morte celular (células picnóticas).

ABSTRACT

In view of the scenario of the established climate changes and the consequent changes in the global temperature, it is essential to study its effects on animal spermatogenesis. Therefore, the objective of this work was to characterize, morphologically and stereologically, the cell types found in spermatogenesis of the yellow-tetra *Astyanax altiparanae*, to determine the testicular phases and to verify the spermatogenesis duration at different temperatures. For this purpose, ninety-six male and adult specimens of *A. altiparanae* were kept in a closed circulation system under water temperature stabilized at 27°C (comfort temperature) and 32°C. Subsequently, the specimens received pulses of BrdU (bromodeoxyuridine) at a concentration of 100 mg/kg/day for 2 consecutive days, and samples were collected daily during a period of 15 days. Their testes were removed, fixed, processed in historesin and sectioned in 3 µm, submitted to Hematoxylin/Eosin and to BrdU immunodetection. Partial results of the comfort temperature allowed to classify the *A. altiparanae* spermatogonia in Aind*, Aind, Adif and B. Moreover, the reproductive cycle of the species was classified in Regressed, Initial Maturation, Mid Maturation, Final Maturation and Regression. It was possible to conclude that the spermatogenesis duration was determined in approximately six days for animals at 27°C and one day for animals at 32°C. In addition, the elevated temperature was also responsible for increased cell proliferation in spermatids, spermatozoa, and in cell death (pyknotic cells).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Aplicação de BrdU em exemplares de <i>Astyanax altiparanae</i>	41
Figura 2: Disposição dos testículos de <i>Astyanax altiparanae</i>	42
Figura 3: Tipos espermatogoniais em <i>Astyanax altiparanae</i>	43
Figura 4: Fase meiótica ou espermatocitária em <i>Astyanax altiparanae</i>	44
Figura 5: Espermiogênese em <i>Astyanax altiparanae</i>	45
Figura 6: Fases do desenvolvimento testicular de <i>Astyanax altiparanae</i>	46
Figura 7: Fases do desenvolvimento testicular de <i>Astyanax altiparanae</i>	47
Figura 8: Índice Gonadossomático de <i>Astyanax altiparanae</i> em 27°C e 32°C.....	48
Figura 9: Frequência (quantidade) de espécimes de <i>Astyanax altiparanae</i> por fases de maturação testicular.	49
Figura 10: Tipos espermatogoniais em <i>Astyanax altiparanae</i> que retiveram BrdU em 27°C .	50
Figura 11: Duração da espermatogênese em <i>Astyanax altiparanae</i> a 27°C.....	51
Figura 12: Duração da espermatogênese em <i>Astyanax altiparanae</i> a 32°C.....	52
Figura 13: Análise estereológica da marcação celular na espermatogênese de <i>Astyanax altiparanae</i>	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Aspectos reprodutivos dos peixes.....	13
1.2	A influência da temperatura na reprodução e o atual cenário do clima global	15
1.3	A espécie modelo	18
1.4	Duração da espermatogênese através de imunodeteção com bromodeoxiuridina	19
2	OBJETIVO	21
2.1	Objetivo geral	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	Animais	22
4	RESULTADOS.....	27
4.1	Histologia.....	27
4.2	Análise do Índice Gonadosomático (IGS).....	30
4.3	Determinação da duração da espermatogênese (fase meiótica à fase espermiogênica)	31
4.4	Análise Estereológica.....	32
5	DISCUSSÃO	34
6	CONCLUSÃO	40
7	LISTA DE FIGURAS	41
8	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos reprodutivos dos peixes

A reprodução em peixes apresenta a maior diversidade de estratégias do que qualquer outro grupo de vertebrados (POUGH; JANES; HEISER, 2008). Fato que pode estar ligado a grande variedade de estratégias e táticas de ciclo de vida que permitiu sua adaptação a ambientes nos quais tanto as condições bióticas (disponibilidade de alimento, pressão de predação, etc.) quanto as abióticas (temperatura, fotoperíodo, oxigênio disponível, etc.) variam amplamente (VAZZOLER, 1996).

Frente a toda essa variabilidade, os peixes são capazes de alocar energia, via alimentação, e através de uma gama de estratégias, utilizarem parte da mesma transformando-a em prole, de modo a garantir seu sucesso reprodutivo. As adaptações que habilitam estes organismos a viverem nos diferentes ambientes se refletem diretamente nas inúmeras estratégias reprodutivas desenvolvidas que, por sua vez, refletem diretamente na morfologia das gônadas das diferentes espécies (GODINHO, 2007). Assim, o conhecimento das características morfológicas das gônadas constitui uma etapa básica e essencial para o entendimento da biologia reprodutiva das espécies (BAZZOLI; RIZZO, 1990; CREPALDI; 2006; QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER; ISHIBA, 2013).

Em peixes, os testículos são formados basicamente por dois compartimentos: o compartimento intersticial e o germinativo. O compartimento intersticial abriga as células de Leydig, responsáveis pela produção de esteroides, vasos sanguíneos, entre outros. Enquanto que o compartimento germinativo, como o próprio nome sugere, abriga as células germinativas, que resultarão na produção de espermatozoides, além das células de Sertoli, responsáveis principalmente pela sustentação e nutrição dos espermatocistos (GRIER, 1992; GRIER, 1993; SCHULZ; NÓBREGA, 2011).

Diferente do que ocorre em mamíferos (GARCIA; FERNÁNDEZ, 2001), em peixes, a espermatogênese (nome dado ao processo de formação dos gametas masculinos) ocorre em unidades funcionais chamadas espermatocistos (GRIER, 1993), que são constituídos por grupos de células germinativas em um mesmo estágio de desenvolvimento, circundados por projeções citoplasmática das células de Sertoli (GRIER et al., 1980; GRIER, 1992, GRIER; TAYLOR, 1998; SCHULZ et al., 2010). Assim, a formação dos gametas masculinos tem início com a fase proliferativa (divisões mitóticas), seguido de uma fase meiótica, e finalizar uma fase de diferenciação celular, denominada espermiogênese, resultando na formação do espermatozoide (GRIER, 1981; GARCIA; FERNÁNDEZ, 2001; SCHULZ, et al. 2010).

A organização do epitélio germinativo no testículo permite a classificação deste órgão em dois tipos: lobular ou tubular anastomosado. O testículo classificado como lobular é caracterizado pela presença de epitélio germinativo organizado em compartimentos que se estendem em prolongamentos que terminam em um fundo cego na periferia do testículo, enquanto que o testículo classificado como tubular anastomosado é caracterizado por um epitélio germinativo organizado em compartimentos interconectados, impedindo a identificação de início ou término do túbulo (GRIER, 1993; PARENTI; GRIER, 2004).

Além disso, o epitélio germinativo pode ser definido como contínuo ou descontínuo (GRIER; TAYLOR, 1998). O epitélio contínuo consiste em um agrupamento contínuo de células germinativas (isoladas ou em espermatocistos) por todo o comprimento de um lóbulo ou túbulo anastomosado, enquanto que o epitélio descontínuo é caracterizado pela ausência dessas células ao longo desses compartimentos; tal fato ocorre devido à abertura dos espermatocistos e a liberação dos espermatozoides para o lúmen; como esta liberação não ocorre de forma uniforme, a parede do lóbulo ou túbulo apresenta alternância entre áreas contínuas e descontínuas, com presença somente de células de Sertoli (GRIER, 1993; GRIER; TAYLOR, 1998; GRIER; LO NOSTRO, 2000, BROWN-PETERSON et al., 2002).

É interessante salientar que a espermatogênese é influenciada por fatores abióticos, estimulando a reprodução, adiando ou até impedindo-a (VAZZOLER, 1996; RIBEIRO; MOREIRA, 2012). Dentre eles destacam-se o pH (concentração de íons de hidrogênio em uma solução), oxigênio dissolvido (OD) e a temperatura (QUEROL; QUEROL; PESSANO, 2004; SILVA; SOUZA; KAYANO, 2007), por serem fatores associados, uma vez que a concentração de oxigênio presente na água e o pH vão variar de acordo com a pressão atmosférica (altitude) e com a temperatura do meio, respectivamente (CETESB, 2015).

Em peixes, fatores exógenos como o fotoperíodo e a temperatura podem funcionar como gatilhos hormonais, de modo que tais hormônios vão atuar em diferentes fases do ciclo gonadal, indicando condições ideais ou não para a desova, por exemplo (MUNRO, 1990 citado por VAZOLLER, 1996).

6 CONCLUSÃO

Com base nas diferenças morfológicas das células germinativas presente no testículo de *Astyanax altiparanae*, foi possível a identificação de espermatogônias do tipo A-indiferenciadas*, A-indiferenciadas, A-diferenciadas e espermatogônias do tipo B. As fases para o ciclo reprodutivo foram classificadas de acordo com as características do epitélio germinativo, sendo Regredido, Maturação Inicial, Maturação Intermediária, Maturação Final e Regressão.

Com relação à elevação da temperatura da água, podemos concluir que ela acelera o processo espermatogênico (fase meiótica e espermiogênica) em *A. altiparanae*, proporcionando um aumento na proliferação de espermátides e espermatozoides e um discreto aumento na morte celular. Deste modo, houve uma redução de cinco dias quando a mesma é alterada de 27°C para 32°C, de forma que a espermatogênese em *A. altiparanae* submetidos à temperatura da água a 27°C tem duração mínima de seis dias e à 32°C tem duração mínima de um dia.

8 REFERÊNCIAS

- ADAMOV, N. S. M.; NASCIMENTO, N. F.; MACIEL, E. C. S.; PEREIRA-DOS-SANTOS, M.; SENHORINI, J. A.; CALADO, L. L.; EVANGELISTA, M. M.; NAKAGHI, L. S. O.; GUERRERO, A. H. M.; FUJIMOTO, T.; YASUI, G. S. Triploid induction in the yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, using temperature shock: tools for conservation and aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, 1-10, 2016.
- ALVARENGA, E. R.; FRANÇA, L. R. Effects of diferente temperatures on testis structure and function, with emphasis on somatic cells, in sexually mature Nile Tilapias (*Oreochromis niloticus*). **Biology of Reproduction**, v.80, p.537-544, 2009.
- BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in the Brazilian teleost fish species. **European Archives of Biology**, Leige, v. 10, p. 399-410, 1990.
- BILLARD R. La spermatogènese de *Pecilia reticulata*. IV. La espermiogênese. Etude ultrastructurale. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.**, v.10, p.493-510, 1970.
- BRETON, B. et al. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in the rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson. In: **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**. EDP Sciences, 1977. p. 331-340.
- 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, 52–70, 2011.
- BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195 p.
- BUZOLLO, H.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; OLIVEIRA-ALMEIDA, I. R.; ALEXANDRE, J. S.; OKUDA, H. T.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Structural analysis of the *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) embryogenesis (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v.9, 601-616, 2011.

CAHILL, A. E.; AIELLO-LAMMENS, M. E.; FISHER-REID, M. C.; HUA, X.; KARANEWSKY, C. J.; RYU, H. Y.; SBEGLIA, G. C.; SPAAGNOLO, F. WALDRON, J. B.; WARSI, O.; WIENS, J. J. How does climate change cause extinction? **Biological Sciences**, New York, v. 280, p. 1 - 9, 2012.

CAMARGO, M. P. **Caracterização das espermatogônias indiferenciadas e dos nichos espermatogoniais em *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski 2000 (Teostei, Characidae)** Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

CASATTI, L.; CASTRO, R. M.C. A Fish community of the São Francisco River headwaters riffle southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, München, v. 9, n. 3, p.229-242, 1998.

CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; ***Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação.** Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências de Botucatu, 2007. 119 p.

CETESB - **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental.** Alterações físicoquímicas da água. [relatório na internet]. São Paulo; 2015. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/mortandade/causas_oxigenio.php> Acesso em: 15 de janeiro de 2017.

COMTE, L.; BUISSON, L.; DAUFRESNE, M.; GRENOUILLET, G. Climate-induced changes in the distribution of freshwater fish: observed and predicted trends. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 58, p. 625-639, 2013.

COSTA, R. S. Criopreservação embrionária de *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1986) submetidos a eletroporação e ultrassom. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2017.

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

DE ROOIJ, D.G. and RUSSELL, L.D. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. **Journal of Andrology**, v. 21, 776-798, 2000.

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

DJORDJEVIC, B.; SZYBALSKI, W. Incorporation of 5-bromo-2'-deoxyuridina ou BrdU into the deoxy-ribonucleic acid oh human cells and its effect on radiation sensitivity. **Genetics of Human Cell Lines**, v. 3, 509-531, 1960.

DONELSON, J. M.; MUNDAY, P. L.; MCCORMICK, M. I.; PANKHURST, M. W.; PANKHURST, P. M. Effects of elevated water temperature and food availability on the reproductive performance of a coral reef fish. **Marine Ecology Progress Series**, Australia, v. 401, 233-243, 2010.

DOS SANTOS SILVA, A. P. **Biologia reprodutiva de fêmeas de *Laetacara araguaiae* (Labriformes: Cichlidae)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Programa de Ciência e Tecnologia Animal, 2014.

FERRAZ, F. M.; CERQUEIRA, V. R. – Influência da temperatura na maturação gonadal de machos do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 32, p. 73-83, 2010.

FRASER, E. J.; BOSMA, P. T.; TRUDEAU, V. L.; DOCHERTY, K. The Effect of water on the GABAergic and reproductive systems in female and male golfsfish (*Carassius auratus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 125, 163-175, 2002.

FRAILE, B.; SÁEZ, F. J., VICENTINI, C. A., GONZÁLEZ, A., DE MIGUEL, M. P., PANIAGUA, R Effects of temperature and photoperiod on the *Gambusia affinis holbrooki* testis during the spermatogenesis period. **Copeia**, p. 216-221, 1994.

GARCIA, S. M. L; FERNANDEZ, C. G., **Embriologia**. Porto Alegre: Artmed, 2001. 416 p.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H. A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto Rio Paraná e considerações gerais sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comum Mus Ciênc Tecnol PUCRS Série Zoologia**. v.13, p.65-88, 2000.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.351-360, 2007

GRIER, H.J.; LINTON, J.R.; LEATHERLAND, J.F.; DE VLAMING, V.L. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. **Am. J. Anat.**, v.159, p.331-45, 1980.

GRIER, H. J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **AMER. ZOOL.**, v. 21, 345-357, 1980.

GRIER, H.J. Chordate Testis: The Extracellular Matrix Hypothesis. **Journal of Experimental. Zoology**, v.261, p.151-60, 1992.

GRIER, H.J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. The Sertoli Cell. **Clearwater, FL**: Cache River Press, p.704-739, 1993.

GRIER, H.J.; TAYLOR, R.G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, v.53, p. 521-42, 1998.

GRIER, H. J. The germinal epithelium: its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. **Gulf and Caribbean Fisheries Institute**, v. 53, 537-580, 2002.

HAKALA, M. T. Mode of Action of 5-Bromodeoxyuridine on Mammalian Cells in Culture. **The Journal of Biological Chemistry** , V. 234, 3072-3076, 1959.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Mitigation of Climate Change** [relatório na internet]. Cambridge, 2014. Disponível em : <http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/ipcc_wg3_ar5_full.pdf> Acesso em: 15 de janeiro de 2017.

JONSSON, B.; JONSSON, N. Trans-generation maternal effect: temperature influences egg size of the offspring in Atlantic Salmon *Salmo salar*. **Journal of Fish Biology**, v. 89, 1482-1487, 2016.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000.

LADEIRA, A. L. F.; VIEIRA, U. V.; CAMPELO, D. A. V.; ZUANON, J. A. S.; SALARO, A. L. Comportamento alimentar e taxa de mortalidade de *Astyanax altiparanae* em diferentes temperaturas da água. **XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia: Dimensões sociais e tecnológicas da zootecnia**. Fortaleza, 2015.

LEAL, M. C.; CARDOSO, E. R.; NOBREGA, 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**, 81:77-187, 2009

LEVKOFF, L. H.; MARSHALL, G. P.; ROSS, H. H.; CALDEIRA, M.; REYNOLDS, B. A.; CAKIROGLU, M.; MARIANI, C. L.; STREIT, W. J.; LAYWELL, E. D. Bromodeoxydiuridine inhibits cancer cell proliferation *in vitro and in vivo*. **Neoplasia**: Australia, v. 10, n.8, 804-821, 2008.

LIMA, F. C. T.; MALABARBA, L. R.; BUCKUP, P. A.; SILVA, J. F. P.; VARI, R. P.; HAROLD, A.; BENINE, R.; OYAKAWA, O. T.; PAVANELLI, C. S.; MENEZES, N. A.; LUCENA, Z. M. S.; REIS, R. E.; LANGEANI, F.; CASSATI, L.; BERTACO, V. A.; MOREIRA, C.; LUCINDA, P. H. F.. **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Organized by Roberto E. Reis, Sven O. Kullander, Carl J. Ferraris, Jr - Porto Alegre: Edipucrs, 2003. 742 p.

MAJHI, S. L. CHOUDHARY, B. K. Elevated Water Temperature Induces Germ Cell Proliferation in Loach *Lepidocephalus guntea* (Hamilton): Implication for Brood Stock Development. **Natl. Acad. Sci. Lett**, V. 37, 107–111, 2014.

MARENGO, J. A. **Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente: Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2006.

MELO, R. M.; RIBEIRO, Y. M.; LUZ, R. K., BAZZOLI, N., RIZZO. Influence of low temperature on structure and dynamics of spermatogenesis during culture of *Oreochromis niloticus*. **Animal reproduction Science** 172 (2016): 148-156.

MOJICA, C. A. P. **Morfologia testicular e estrutura da espermatogênese em peixes ornamentais Tetra Negro, *Gymnocorymbus ternetzi*; Tetra Amarelo, *Hyphessobrycon bifasciatus* e Mato Grosso, *Hyphessobrycon eques* (Teleostei, Characiformes)**. Tese

(doutorado) Curso de pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP, Jaboticabal, 2007. 95 p.

NÓBREGA, R. H.; GREEBE, C. D.; VAN DE KANT, H.; BOGERD, J.; FRANÇA, L. R. Spermatogonial Stem Cell Niche and Spermatogonial Stem Transplantation in Zebrafish. **PLoS ONE**, v. 5, 2010.

NUNES, L. H. **Repercussões globais, regionais e locais do aquecimento global**. Terra Livre, São Paulo, v. 1, 101-110, 2003.

OLIVEIRA, M. A. **Nicho espermatogonial em *Cyprinus carpio* e papel do Amh na espermatogênese**. Dissertação (mestrado). Curso de pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP, Jaboticabal, 2014, 84p.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R.. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p.181-191, 2013.

QUEROL, M. V. M.; QUEROL, E.; PESSANO, E. F. Influência de fatores abióticos sobre a dinâmica da reprodução do cascudo viola *Loricariichthys platymetopon* (Isbrucker & Nijssen, 1979) (Osteichthyes, Loricariidae), no reservatório da estância Nova Esperança, Uruguaiana, bacia do Rio Uruguai, RS, Brasil. **Biodiversidade Pampeana**, Uruguaiana, v. 2, p. 24-29, 2004.

QUINTANA, L., SILVA, A.; BEROIS, N.; MACADAR, O. Temperature induces gonadal maturation and affects electrophysiological sexual maturity indicators in *Brachyhypopomus pinnicaudatus* from a temperate climate. **The Journal of Experimental Biology**, V. 207, 1843-1853, 2004.

PANKHURST, N. W.; PÖRTER, M. J. R. Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. **Fish Physiology and Biochemistry**, New York, v. 28, p. 385-389, 2003.

PARENTI, R. L.; GRIER H. J. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. **Integrative and Comparative Biology**, v.44, p.333–348, 2004.

PEDROZO, C. S.; KAPUSTA, S. C. **Indicadores Ambientais em Ambientes Aquáticos**. Porto Alegre : Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 2010. 72 p.

PEREIRA DOS SANTOS, M., YASUI, G. S.; XAVIER, P. L. P.; ADAMOV, N. S. M.; DO NASCIMENTO, N. F.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J. A., NAKAGHI, L. S. O. Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). **Zygote**, Cambridge, 1-13, 2016.

POUGH, F. H.; JANES, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

PÖRTNER, H. O. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 132, p. 739-761, 2002.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). IN: **Espécies Nativas para Piscicultura**. Santa Maria: Ed UFMS, 2005, 468p.

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

RODRIGUES, M. R.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; POSTINGEL-QUIRINO, P.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Spermatogenesis in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*: a histological analyses with emphasis to spermatogonial and spermatid types. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v.41, 697 – 705, 2015.

RUFINO, M. D. **Aquecimento global: questões e discussões. Trabalho de Conclusão de Curso: Graduação em Geografia**. Universidade Estadual da Paraíba, 2014.

SABBAG, O. J.; TAKAHASHI, L. S.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; ARANHA, A. S. Custos e viabilidade econômica da produção de lambari-do-rabo-amarelo em Monte Mastelo/SP: um estudo de caso. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 307-315, 2011.

SANTOS, G. M.; MÉRONA, B.; JURAS, A. A.; JÉGU, M. **Peixes do Baixo Rio Tocantins: 20 anos depois da Usina Hidrelétrica Tucuruí**. Brasília: Eletronorte, 2004. 216 p.

SATO, Y; SAMPAIO, E. V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. Biologia Reprodutiva e Reprodução Induzida de Duas Espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da Bacia da São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 1, p. 267-273, 2006.

SCHULZ, R.W.; MENTING, S.; BOGERD, J.; FRANÇA, L.R.; VILELA, D.A.R.; GODINHO, H.P. Sertoli Cell Proliferation in the Adult Testis-Evidence from Two Fish Species Belonging to Different Orders. **Biology of Reproduction**, v. 73, 891-898, 2005.

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.; NÓBREGA, R. H. Anatomy and Histology of Fish Testis. In: Farrell A.P., (ed.), **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**, San Diego: Academic Press v.1, p. 616–626, 2011.

SCHULZ, R. W. , NÓBREGA, R. H. Regulation of Spermatogenesis. In: Farrell A.P., (ed.), **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**, San Diego: Academic Press v.1, p. 627–634, 2011.

SILVA, D. F.; SOUSA, F. A. S.; KAYANO, M. T. Avaliação dos impactos da poluição nos recursos hídricos da bacia do rio Mundaú (AL e PE). **Revista de Geografia**. Recife, v. 24, nº 3, 2007.

SIQUEIRA-SILVA, D. H. et al. The effects of temperature and busulfan (Myleran) on the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) spermatogenesis. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 84, n. 6, p. 1033–1042, 2015.

TUCCI, C.E.M. **Hidrologia: Ciência e Aplicação**. Porto Alegre, Editora da UFRGS/ABRH, 2004.

URIBE, M. C.; GRIER, H. J.; MEJÍA-ROA, V. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. **Spermatogenesis**, v. 4, 2015.

VAN DE KANT, H. J. G.; DE ROOIJ, D. G. Periodic acid incubation can replace hydrochloric acid hydrolysis and trypsin digestion in immunogold-silver staining of

bromodeoxyuridine incorporation in plastic sections and allows the PAS reaction.

Histochemical Journal, v.24, p.170–175, 1992.

VAZZOLER, A. E. A. de M. Manual de métodos para estudo biológico de populações de peixes: reprodução e crescimento. Brasília, CNPq/Programa Nacional de Zoologia. 1981, 108p.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Ed da UEM, 1996.

VIGOYA, A. A. A. **Transplante de espermatogônias tronco em peixes teleósteos, utilizando como modelo experimental a carpa comum (*Cyprinus carpio*)**. Tese (Doutorado). Curso de pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP-CAUNESP, Jaboticabal, 2016. 98 p.

WALTER, M. K. C. **Mudanças climáticas: uma verdade inconveniente**. Multiciência, Campinas, ed. 8, 169-172, 2007.

WOOD, C. M.; MCDONALD, D. G. **Global Warming: implications for fresh water and marine fish**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997, 425p.