

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

FABRÍCIO MARÇAL SILVA DE SOUZA

**VARIAÇÕES SAZONAIS DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DO
ESTEROIDE SEXUAL 17 β -ESTRADIOL (E2) EM FÊMEAS DE
MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – Unesp, Campus de Ilha Solteira, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira

Orientador

Profa. Dra. Crisiéle da Silva Ribeiro

Co-Orientadora

Ilha Solteira
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S729v Souza, Fabrício Marçal Silva de.
Variações sazonais dos níveis plasmáticos do esteroide sexual 17 β -estradiol (e2) em fêmeas de matrinxã (*brycon amazonicus*) / Fabrício Marçal Silva de Souza. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2016
61 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2016

Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira
Co-orientador: Cristiéle da Silva Ribeiro
Inclui bibliografia

1. Vitelogênese. 2. Estradiol. 3. Fatores ambientais.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Variações sazonais dos níveis plasmáticos do esteróide sexual 17 β -estradiol (E2) em fêmeas de Matrinxã (*Brycon amazonicus*).

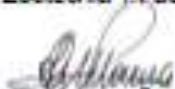
AUTOR: FABRICIO MARÇAL SILVA DE SOUZA
ORIENTADOR: ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA
CO-ORIENTADORA: CRISTIELE DA SILVA RIBEIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: PRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena



Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA WHITTON
Departamento de Fisiologia Geral / Instituto de Biodinâmicas/USP, São Paulo-SP

Ilha Solteira, 04 de março de 2016

Dedicatória

Dedico esta dissertação aos meus pais Aluizio Marçal e Noêmia Souza, a minha avó Maria do Carmo “in memoriam”, meus tios Nilza Silva e João Marques “in memoriam”, que com muito sacrifício e privações educaram a mim e meus irmãos, mostrando sempre o melhor caminho a ser seguido.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Aluizio Souza e Noêmia Souza, por proporcionarem todas as condições necessárias para minha formação, sempre com muito carinho e dedicação, apoiando e me alertando sobre minhas decisões.

A minha avó, Maria do Carmo “in memoriam”, por ter vivido e dedicado uma vida inteira a nossa família estando presente nos melhores momentos da minha vida enquanto estive nesse plano.

Aos meus tios e padrinhos, João Marques “in memoriam” e Nilza Marques, que apesar de distantes geograficamente, não se furtaram de acompanhar minha educação e de meus irmãos, e que nos momentos mais difíceis nunca deixaram que algo nos faltasse.

Aos meus irmãos, Toninho, Luca e Silva, pelo companheirismo e amizade verdadeira.

A minha noiva Dani que apesar de distante fisicamente pelas circunstâncias, se faz presente todos os dias em meus pensamentos, obrigado por tudo, principalmente pela paciência.

Aos meus amigos da “terrinha”, Sanderley e Caroline, por compartilharem alguns momentos da minha vida e terem dado o prazer do convívio nesses 2 anos em Ilha Solteira.

Aos meus amigos do Laboratório de Ictiologia Neotropical, Laíza, Jumma, Douglas, Amanda, Geovanna, Diógenes, Pricila, Maira, Luís, Patrícia, Renan, Raphael, Cristiane Bashiyo, pela receptividade que tive ao chegar em Ilha Solteira, companheirismo e ajuda na execução do meu experimento. E que esses dois anos sejam somente o começo de uma longa e produtiva amizade, obrigado pessoal.

A Gabriela Brambila por ter disponibilizado parte do seu tempo para me auxiliar com as análises no LAMEROA, sua ajuda foi de extrema importância, obrigado.

Ao meu orientador, Alexandre Ninhaus Silveira, primeiramente pelo voto de confiança e por ter dado a oportunidade para eu voltar a academia. Por ter aceitado a minha proposta de trabalho, me acompanhando e dando todas as condições para execução do projeto de pesquisa. Serei eternamente grato ao senhor.

A minha Co-orientadora, Profa. Dra. Crisiéle da Silva Ribeiro, pelas dicas e esclarecimentos valiosos, pelo companheirismo, por ter viabilizado o acesso ao LAMEROA, além de me auxiliar nas coletas, muitíssimo obrigado.

A Professora Dra. Rosicleire Veríssimo pela receptividade, auxílio na primeira coleta e esclarecimento de dúvidas durante a execução do trabalho.

A Professora Dra. Renata Guimarães Moreira pela cordialidade e acesso ao LAMEROA, às contribuições enriquecedoras na qualificação, na ajuda com os kits e por ter aceitado o convite para compor a banca de defesa, contribuindo ainda mais para o refino do trabalho.

Ao Professor Dr. Igor Paiva por ter aceitado o convite para compor a banca de qualificação contribuindo de forma tamanha para melhoria da dissertação.

Ao Professor Dr. Leonardo Takahashi pela disponibilidade em participar da banca de defesa, e por acreditar que suas considerações serão importantes para conclusão do trabalho.

Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (CEPTA/ICMBio) em nome do seu Coordenador o Dr. José Augusto Senhorini, pela possibilidade de utilização das instalações da Instituição, pelo fornecimento dos animais para o desenvolvimento do experimento e pelo apoio incondicional em todos os momentos da realização desta pesquisa. Muito obrigado!

Aos funcionários CEPTA/ICMBio Luís Alberto Gaspar “Gordo”, Dr. Cláudio Luiz Bock, Noel Donizetti Martins, Dalton Donizetti Machado, Arlindo Donizetti Lançoni e “Tim”, pois sem a ajuda e experiência de vocês seria uma missão impossível realizar este projeto, muito obrigado.

A EMATER/Pa por ter viabilizado a minha participação durante os dois anos de curso. Muito obrigado!!!

Ao CEPTA/ICMbio.

Ao LAMEROA/USP.

A UNESP/Ilha Solteira pelo apoio e ensino durante toda a minha vida acadêmica

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi investigar a possível associação de variáveis ambientais, como o fotoperíodo, a concentração de oxigênio dissolvido, a temperatura da água, o pH, a condutividade, a transparência e a precipitação pluviométrica no ciclo reprodutivo anual de fêmeas de *Brycon amazonicus* mantidas em cativeiro. Para tal, foi avaliada a variação da concentração plasmática do Estradiol (E2) durante 1 ciclo reprodutivo e correlacionado com o conjunto das variáveis acima citadas. O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (CEPTA/ICMBio), Pirassununga, Estado de São Paulo, entre os meses de maio de 2014 a abril de 2015. Para tal, foram utilizadas treze fêmeas microchipadas de *Brycon amazonicus* com 4 anos, massa de 910 ± 142.97 g e comprimento total de 39.79 ± 1.83 cm. Esses exemplares foram alimentados com ração extrusada, com 24% de proteína bruta, a uma taxa de 5% peso vivo/dia. As amostras de sangue foram coletadas mensalmente, sendo os reprodutores previamente anestesiados em solução de Fenoxietanol (0,4mL/L de água - Sigma Aldrich®). As amostras de plasma foram analisadas por ensaio imunoenzimático. Diariamente foram coletados os parâmetros de Oxigênio Dissolvido, pH, Transparência, Condutividade, Temperatura, Fotoperíodo e Precipitação Pluviométrica. Foi aplicada a análise exploratória multivariada de dados pelo método da Análise de Componentes Principais (PCA) com representação gráfica via Biplot, e uma vez que o conjunto dos dados não apresentou Normalidade (Teste de Shapiro-Wilk) foi aplicada a Correlação de Spearman e o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com o auxílio do Software R (Package Spearman e Prcomp). O resultado da Análise de Componentes Principais sugere uma possível correlação da concentração plasmática do E2 de forma direta com o O₂D e pH, ao mesmo tempo que pode estar inversamente correlacionada com o fotoperíodo, temperatura e precipitação pluviométrica, sendo pouco provável a associação com a condutividade e transparência da água. Essas evidências foram confirmadas pela Correlação de Spearman que demonstrou que os níveis plasmáticos do E2 tiveram correlação negativa com o Fotoperíodo ($\rho = -0.41$, $p < 0.05$), Precipitação Pluviométrica ($\rho = -0.42$, $p < 0.05$) e a Temperatura ($\rho = -0.31$, $p < 0.05$), sendo

observada uma correlação positiva com o pH ($\rho = 0.38$, $p < 0.05$) e o O₂D ($\rho = 0.28$, $p < 0.05$), não havendo correlação com as variáveis analisadas de Transparência ($p > 0.05$) e Condutividade ($p > 0.05$). O perfil da concentração plasmática do E2 após a aplicação do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), ficou caracterizado por concentrações elevadas nos meses de maio/14 e setembro/14, com diminuição a partir de outubro/14 permanecendo em concentrações reduzidas até fevereiro, quando então é retomada a subida da concentração desses esteroides a partir de março/15. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a concentração plasmática do E2 está correlacionada com as variáveis ambientais de fotoperíodo, temperatura, precipitação pluviométrica, pH e O₂D, com as concentrações mais elevadas desse esteroide encontradas no outono-inverno, e concentrações reduzidas entre a primavera-verão.

Palavras-chave: Vitelogênese. Estradiol. Fatores ambientais. Esteroides gonadais.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate a possible association of environmental variables such as photoperiod, dissolved oxygen, water temperature, pH, conductivity, transparency and pluviosity, along the reproductive cycle of *Brycon amazonicus* females kept in captivity. For that, were correlated during one reproductive cycle, variations of plasmatic Estradiol (E2) concentration and all environment variables above. The experiment was conducted in CEPTA/ICMBio, Pirassununga, São Paulo State, from May 2014 to April 2015. Thirteen tagged females of *Brycon amazonicus* with four years olds were used, weighing $910 \pm 142.97\text{g}$ with total length of $39.79 \pm 1.83\text{cm}$. These specimens were fed by extruded feed with 24% crude protein, using a ratio of 5% body weight. Blood sample were monthly collected and breeders were previously anesthetized by Fenoxietanol (0,4mL/L-Sigma Aldrich®) before each sampling. Plasmatic samples were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. During all trial were recorded daily variables of Dissolved Oxygen, pH, Transparency, Conductivity, Temperature, Photoperiod and Pluviosity. A multivariate exploratory data analysis was applied by Principal Component Analysis (PCA) method and graphically represented via Biplot. As data were not normally distributed (Shapiro-Wilk Test), it was applied Spearman Correlation and Kruskal–Wallis test supported by Software R (Package Spearman and Prcomp). Principal Component Analysis results suggests a possible positive correlation between E2 plasmatic concentration with O₂D and pH, while it may be inversely correlated with photoperiod, temperature and pluviosity, as well an unlikely association with conductivity and water transparency. These evidences were confirmed by Spearman correlation, which demonstrated that plasmatic levels of E2 had a negative correlation with photoperiod ($\rho = -0.41$, $p < 0.05$), Pluviosity ($\rho = -0.42$, $p < 0.05$) and temperature ($\rho = -0.31$, $p < 0.05$), a positive correlation with pH ($\rho = 0.38$, $p < 0.05$) and O₂D ($\rho = 0.28$, $p < 0.05$), and no correlation with variables of Transparency ($p > 0.05$) and Conductivity ($p > 0.05$). The plasmatic profile of E2 concentration after Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$), was characterized by high concentrations in May/14 and September/14, with a decrease from October/14 staying in reduced concentrations until February/15, when became to rise its steroid

concentration from March/15. This study suggest that E2 plasmatic concentration is correlated with environmental variables of photoperiod , temperature , rainfall , pH and O2D , as well as high concentrations of this steroid are found in autumn-winter and low concentrations between spring-summer.

Keywords: Vitellogenesis. Estradiol. Environment factors. Gonadal steroids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eventos endócrinos ao longo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal envolvidos na fase de desenvolvimento/vitelogênese (A) e fase de maturação final (B) em fêmeas de peixe.....	18
Figura 2 - Representação esquemática do Modelo "Two Type Cell".....	21
Figura 3 - Via Esteroidogênica ($\Delta 4$ e $\Delta 5$) envolvida na biossíntese do E2 (vitelogênese) e 17,20-DHP (maturação).....	22
Figura 4 - Regulação fotoneuroendócrina em peixes. Legenda: Seta amarela – estímulo luminoso; Seta azul – resposta fisiológica; Em vermelho – receptores de melatonina; APO – área pré-óptica hipotalâmica; NSC – núcleo supraquiasmático..	25
Figura 5 - Exemplar de <i>Brycon amazonicus</i>	31
Figura 6 - Valores das concentrações plasmáticas do estradiol (média) e das variáveis ambientais (média e desvio-padrão) de fotoperíodo (A), temperatura (B), pH (C), O ₂ D (D), precipitação pluviométrica (E), condutividade (F) e transparência da água (G) no período experimental.	37
Figura 7 - Biplot da correlação entre as variáveis analisadas. Legenda: E2 – Estradiol; O ₂ D – Oxigênio dissolvido; pH – potencial hidrogeniônico; Transp. – Transparência da água; Precip.- Precipitação pluviométrica; Temp.- Temperatura da água; Foto.- Fotoperíodo; Cond.- Condutividade da água.....	41
Figura 8 - Perfil anual da concentração plasmática do E2 (pg/mL) em fêmeas de <i>Brycon amazonicus</i> mantidas em cativeiro.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da validação do Kit-ELISA IBL® E2 para o plasma sanguíneo de fêmeas de <i>Brycon amazonicus</i>	40
Tabela 2 - Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis ambientais e as concentrações plasmáticas do E2 em fêmeas de <i>Brycon amazonicus</i>	42

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
GTH	Hormônio Gonadotrófico
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
LH	Hormônio Luteinizante
T	Testosterona
E2	Estradiol
17 α -OHP	17 α -Hidroxiprogesterona
17 α ,20 β -DHP	17 α ,20 β - Dihidroxiprogestrona
P450arom	Enzima Aromatase
20 β -HSD	Enzima 20 β -Hidroxiesteroide Desidrogenase
MIS	Esteróide Indutor da Maturação
Temp	Temperatura da água (°C)
O ₂ D	Oxigênio Dissolvido (ppm)
Condut	Condutividade elétrica da água (μ S/cm)
Transp	Transparência da água (cm)
Val. Kit	Validação do Kit
n	Unidade Experimental (peixe)
Vtg	Vitelogenina
GV	Vesícula Germinativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	Ciclo reprodutivo em peixes	17
2.2	Controle endócrino e biossíntese dos esteroides sexuais envolvidos na reprodução de peixes	19
2.3	Fatores ambientais envolvidos na modulação da reprodução em peixes	22
2.4	Caracterização da espécie <i>Brycon amazonicus</i>	32
3	OBJETIVO GERAL	32
3.1	Objetivos Específicos	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Local de realização e condições de manejo	33
4.2	Coleta de material biológico	33
4.2.1	<i>Identificação dos espécimes e Coleta de Material Biológico</i>	33
4.2.2	<i>Elisaimunoensaio (ELISA) e Validação do Kit Comercial</i>	35
4.3	Coleta dos Dados Ambientais	35
4.3.1	<i>Variáveis físico-químicas da água</i>	35
4.3.2	<i>Variáveis Meteorológicas</i>	36
4.4	Análise Estatística	36
5	RESULTADOS	37
6	DISCUSSÃO	43
6.1	Correlação do fotoperíodo com a concentração plasmática do E2	43
6.2	Correlação da temperatura e oxigênio dissolvido com a concentração plasmática do E2	44
6.3	Correlação do pH e pluviosidade com a concentração plasmática do E2	46
7	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

O ciclo reprodutivo em peixes teleósteos é um evento sazonal, em que as participações de variáveis ambientais são mais perceptíveis em latitudes elevadas, com destaque para participação, da temperatura e fotoperíodo na reprodução deste grupo de animais. Há também a participação de fatores como feromônios, condição nutricional, disponibilidade de alimentos, interação social e fase lunar no controle endócrino deste evento (BROMAGE et al., 2001; PANKHURST; PORTER, 2003; ANDERSON et al., 2012;).

Um dos primeiros relatos do envolvimento de variáveis ambientais na modulação da reprodução em peixes foi feito por Hoover (1937), que através da compressão do fotoperíodo anual em apenas 6 meses conseguiu antecipar em 90 dias a reprodução de trutas (*Salvelinus fontinalis*) quando comparado aos espécimes mantidos sob condições naturais. Posteriormente com a aplicação de diferentes fotoperíodos, Bromage et. al.(1984) mostraram ser possível antecipar ou prorrogar o período reprodutivo em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), e para esta mesma espécie Duston e Bromage (1986) relataram que a exposição à diferentes regimes de fotoperíodo geravam um padrão no pico da Testosterona (T) e 17 β -Estradiol (E2) em momentos distintos pós-exposição.

Sabe-se, que sob condições naturais, as variações fotoperiódicas são acompanhadas por modificações cíclicas na temperatura da água ao longo das estações climáticas. Para Van Der Kraak e Pankhurst (1996) a temperatura age na síntese, secreção e metabolismo hormonal, em que a elevação anormal desse variável pode comprometer a homeostase endócrina, uma vez que para a biossíntese dos esteroides sexuais há uma faixa de temperatura ótima.

King et al. (2003) demonstraram em *Salmo salar* os efeitos negativos de temperaturas elevadas na biossíntese do E2 causando a redução no diâmetro dos oócitos e lesões no córion, bem como a diminuição da fertilidade e sobrevivência embrionária, sendo que para esta mesma espécie Watts, Pankhurst e King (2004b) atribuíram a redução dos níveis plasmáticos do E2, à provável supressão da atividade da enzima aromatase (P450arom), responsável pela conversão de

andrógenos a estrógenos, devido à elevação da temperatura. Já Garcia-López et al. (2006) demonstraram que o sinergismo entre o fotoperíodo e a temperatura da água favoreceu a biossíntese do esteroide sexual em fêmeas de *Solea senegalensis*. Quando mantidas sob condições de fotoperíodo natural e temperatura constante apresentaram concentração de E2 menor em relação ao grupo mantido sob condições de flutuação natural de fotoperíodo e temperatura da água.

Em espécies tropicais há um número limitado de publicações no segmento da fisiologia ambiental (PANKHURST; PORTER, 2003), o que dificulta percepção dos fatores ambientais envolvidos no controle da reprodução dessas espécies, um vez que a maioria das publicações concentram-se em espécies de clima temperado e água fria, tais como: *Oncorhynchus mykiss* (BROMAGE et al., 1982; Duston e Bromage, 1986), *Dicentrarchus labrax* (PRAT et al., 1999), *Fundulus heteroclitus* (SHIMIZU, 2003), *Gadus morhua* (NORBERG et al., 2004) e *Melanogrammus aeglefinus* (DAVIE et al., 2007)

No ciclo reprodutivo, de acordo com Lubzens et al. (2010), o processo da vitelogênese caracteriza a primeira fase do ciclo reprodutivo, em que o desenvolvimento e o aumento do volume dos oócitos ocorrem pelo sequestro e incorporação da vitelogenina, uma glicolipofosfoproteína precursora do vitelo. Esse processo é mediado pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e sob sua ação o esteroide sexual E2 é sintetizado pelas células foliculares ovarianas. Nessa fase o E2 assume ação biológica indispensável no processo de vitelogênese, pois ao ser carregado pelo sistema vascular até o fígado, estimula a síntese e secreção da vitelogenina pelos hepatócitos, que ao retornar para os ovários viabiliza o desenvolvimento oocitário, além de servir como substrato nutricional para o desenvolvimento embrionário e pré-larval. Esse evento biológico é considerado primordial para o sucesso da reprodução e geração de proles viáveis (NAGAHAMA et al., 1993; MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010; ALMEIDA, 2013).

No Brasil algumas espécies de origem amazônica, entre elas a matrinxã (*Brycon amazonicus*), foram introduzidas na região sudeste a partir da década de 60 visando o enriquecimento dos inúmeros reservatórios existentes nessa região, geograficamente transferidas de uma região de baixa latitude, para uma região de

latitude média em que as estações do ano são bem definidas e há uma maior amplitude de fotoperíodo e temperatura (DELARIVA; AGOSTINHO, 1999).

As informações sobre a ação neuromoduladora de fatores ambientais sobre eixo hipolâmico-hipofisário-gonadal em espécies nativas brasileiras são bastante limitadas, impossibilitando a visualização de repostas fisiológicas, que podem estar relacionadas com outras variáveis além do fotoperíodo e temperatura, como precipitação pluviométrica, condutividade, transparência, pH e oxigênio dissolvido.

Buscando um melhor entendimento sobre a participação de variáveis ambientais nos processos fisiológicos da reprodução, este trabalho teve por objetivo testar a hipótese da associação de variáveis ambientais (fotoperíodo, temperatura, oxigênio dissolvido, índice pluviométrico, condutividade, transparência e pH) com os níveis da concentração plasmática do esteroide gonadal E2 em fêmeas de *Brycon amazonicus* mantidas num sistema semi-intensivo de criação.

Esta é uma abordagem inédita no cenário fisiológico para espécies neotropicais transferidas de seu habitat natural para o sistema de cativeiro, e os resultados obtidos podem fornecer subsídios para a compreensão de pontos importantes e aplicáveis na área de conservação e produção de *B. amazonicus*, além de conhecimentos básicos da fisiologia desta espécie.

2 REVISÃO DA LITERATURA

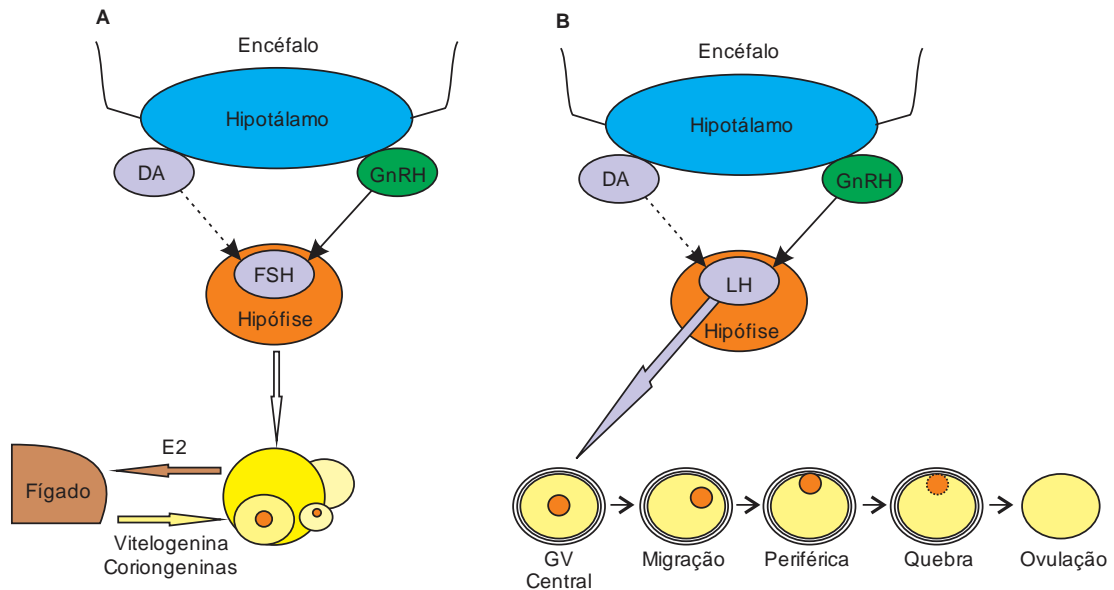
2.1 Ciclo reprodutivo em peixes

O ciclo reprodutivo pode ser definido como um conjunto de processos biológicos contínuos, que permitem a geração de gametas maduros haploides, a partir de células germinativas imaturas diploides, com o propósito final de gerar proles viáveis (CABRITA; ROBLES; HERRÁEZ, 2008).

Assim como em outros vertebrados, o ciclo reprodutivo dos peixes é dividido em duas fases bem distintas. Uma primeira fase caracterizada pela proliferação das oogônias e o desenvolvimento oocitário em fêmeas, e nos machos a proliferação das espermatogônias avançando até a formação das espermátides. Sendo a segunda fase marcada nas fêmeas pelo crescimento e maturação oocitária e gonadal e, nos machos, pelo processo de espermiogênese, com a formação e maturação dos espermatozoides, crescimento das gônadas e, por fim, espermição. (ZOHAR; MYLONAS, 2001; ZANIBONI FILHO; WEINGARTNER, 2007; MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010).

A primeira fase de cada ciclo reprodutivo em fêmeas (Figura 1), tem início a partir da proliferação mitótica das oogônias que entram em meiose dando origem aos oócitos, que estacionam na fase de diplóteno (tardio) da primeira divisão meiótica, seguido posteriormente pelo desenvolvimento oocitário através do sequestro de vitelogenina e proteínas coriogênicas sintetizadas no fígado, que são incorporadas por micropinocitose promovendo o aumento do diâmetro dos oócitos, caracterizando a vitelogênese (YARON, 2011; QUAGUIO-GRASSIOTTO; WILDNER; ISHIBA, 2013).

Figura 1 - Eventos endócrinos ao longo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal envolvidos na fase de desenvolvimento/vitelogênese (A) e fase de maturação final (B) em fêmeas de peixe



Fonte: Adaptado de Yaron (2011).

Completada a vitelogênese, com a formação dos oócitos pós-vitelogênicos, tem início a fase de maturação (Figura 1B). Esta fase é descrita morfologicamente pela migração da vesícula germinativa (GV) em direção ao pólo animal, seguida da desintegração de sua membrana, estágio denominado de quebra da vesícula germinativa (GVBD), em que há a condensação cromossômica e a liberação do primeiro corpúsculo polar, marcando a primeira divisão meiótica (YARON; LEVAVI-SIVAN, 2011).

Nesse estágio ocorre em algumas espécies marinhas a absorção de água e hidratação dos oócitos, gerando o aumento da pressão na parede das células foliculares, seguida de sua ruptura e liberação do oócito para o lúmen ou cavidade celomática. Há então a retomada da segunda divisão meiótica até a Metáfase II, e na ocorrência da fertilização, essa divisão se completa com a liberação do segundo corpúsculo polar (BROWN-PETERSON et al., 2011; YARON; LEVAVI-SIVAN, 2011).

Nesse contexto, a interação entre a dinâmica de desenvolvimento oocitário, frequência de desovas dentro de um período reprodutivo e o número de períodos reprodutivos na vida de uma espécie caracterizam a desova (VAZZOLER, 1996).

E de acordo com Vazzoler (1996), os mecanismos de desenvolvimento oocitário podem ser assim definidos:

- Sincrônico em um grupo: caracterizado pela maturação de todas as células oocitárias existentes no ovário que são liberadas de uma só vez no período reprodutivo;
- Sincrônico em dois grupos: caracterizado pela presença de dois lotes de oócitos, em que somente um desses lotes irá maturar sincronicamente no período reprodutivo, ficando um lote remanescente de reserva que irá maturar somente no próximo período reprodutivo;
- Sincrônico em mais de dois grupos: caracterizado por um lote de oócitos de reserva, acompanhado de lotes que apresentam diferentes fases de desenvolvimento, em que os oócitos que compõem cada lote se desenvolvem sincronicamente e os mais desenvolvidos ao atingirem a maturação completa são eliminados;
- Assincrônico: não há evidências da presença de lotes de oócitos no ovário, encontrando-se oócitos em diferentes fases de desenvolvimento, cuja eliminação ocorre à medida que vão atingindo a maturação completa.

A dinâmica das alterações morfológicas peculiares de cada fase do ciclo reprodutivo (desenvolvimento e maturação), se dão mediante ao controle endócrino do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal pelos hormônios gonadotróficos e esteroides sexuais. Diante da complexidade da ação biológica desses hormônios, o tópico a seguir será dedicado a detalhar os mecanismos do controle endócrino na reprodução.

2.2 Controle endócrino e biossíntese dos esteroides sexuais envolvidos na reprodução de peixes

O controle endócrino da reprodução em peixes é mediado pelo sistema nervoso via Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH) hipotalâmico, que ao atuar na adeno-hipófise promove a secreção dos Hormônios Gonadotróficos (GTHs), secreção esta que pode ser afetada pela ação inibidora tanto da dopamina, na

maioria das espécies de água doce, quanto pela provável atuação do Hormônio Inibidor de Gonadotrofinas (GnIH) (ZOHAR et al., 2010). Nesse contexto, a hipófise age no controle da reprodução, a partir da biossíntese e secreção dos GTHs denominados: Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH) (MYLONAS; ZOHAR, 2000).

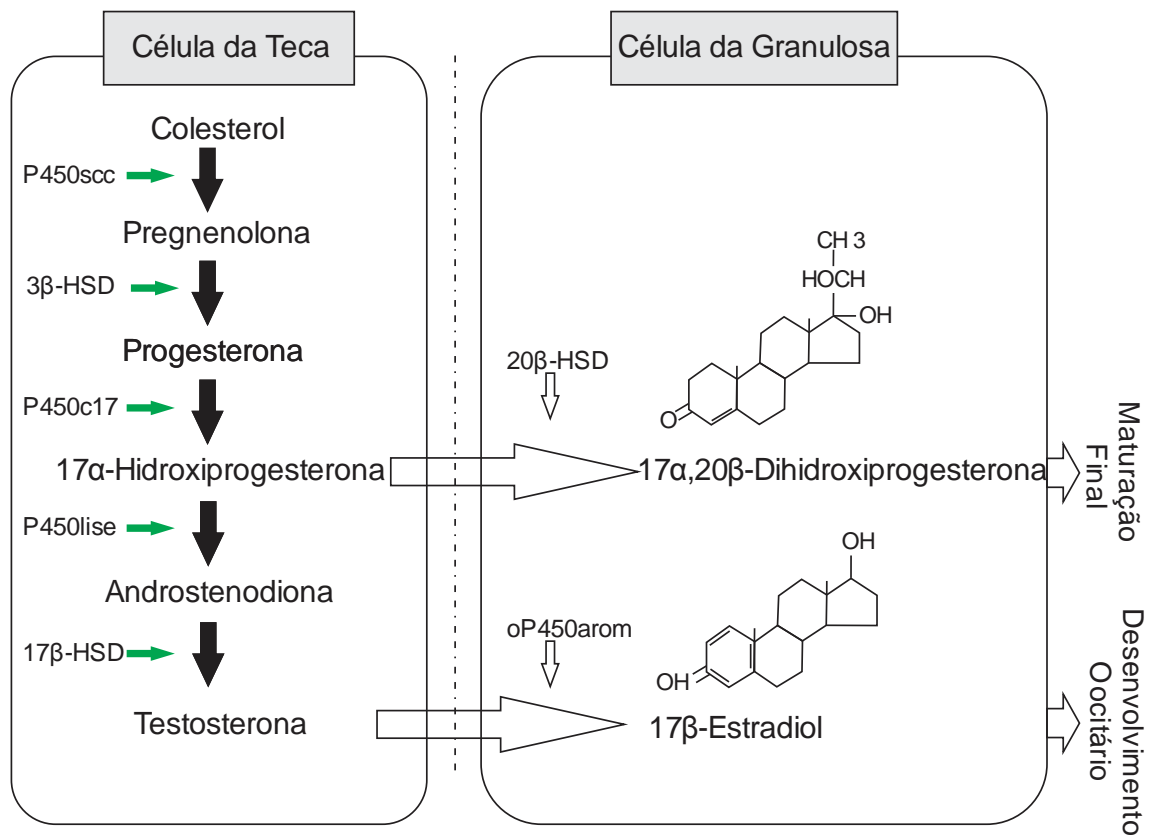
Em fêmeas, as GTHs atuam estimulando a biossíntese dos esteroides sexuais pelos folículos que circundam os oócitos, nas fases de desenvolvimento e maturação. E o padrão de secreção numa variedade de espécies sugere que o FSH tem um papel dominante na regulação da vitelogênese e crescimento dos folículos, através da estimulação da biossíntese do Estradiol (E2) pelos folículos ovarianos. Enquanto que o LH participa na maturação final dos gametas, estimulando a produção do esteroide indutor da maturação (MIS) (NAGAHAMA; YAMASHITA, 2008; NAGAHAMA, 1994; SENTHILKUMARAN; YOSHIKUNI; NAGAHAMA, 2004).

A importância da ação biológica dos GTHs foi demonstrada a partir de experimentos *in vitro* com salmonídeos, que consistiram na utilização de oócitos com folículos intactos e removidos, que ao serem estimulados pelo FSH e LH, permitiram a observação, tanto do desenvolvimento, quanto da maturação, somente nos oócitos cujos folículos foram preservados. Aliado a esses resultados ficou evidente a necessidade das camadas da teca e da granulosa, integrantes do folículo ovariano, nas fases de desenvolvimento e maturação do oócito (KAGAWA; YOUNG; NAGAHAMA, 1982; YOUNG; KAGAWA; NAGAHAMA, 1983; YOUNG; UEDA; NAGAHAMA, 1983; PETRINO et al., 1989).

Com o surgimento de técnicas de dissecação simples, tornou-se possível a separação dos folículos ovarianos e das suas respectivas camadas celulares (teca e granulosa), observando-se na camada da teca a biossíntese da Testosterona (T) e 17 α -Hidroxiprogesterona (17 α -OHP), que ao se difundirem para a camada da granulosa são metabolizados em E2 e 17 α ,20 β - dihidroxiprogesterona (17 α ,20 β -DHP).

Diante desses resultados, foi proposto por Nagahama (1994) o modelo "Two Cell Type" para o E2 e $17\alpha,20\beta$ -DHP (Figura 2). Nesse modelo as células da camada teca produzem a T e a 17α -OHP, que ao se difundirem através da lâmina basal para camada da granulosa, sofrem a ação das enzimas esteroidogênicas Aromatase (P450arom) e 20β -Hidroxiesteroide desidrogenase (20β -HSD), sendo convertidas em E2 e $17\alpha,20\beta$ -DHP, nas fases de desenvolvimento e maturação respectivamente (SENTHILKUMARAN; YOSHIKUNI; NAGAHAMA, 2004).

Figura 2 - Representação esquemática do Modelo "Two Type Cell".



Fonte: Adaptado de Senthilkumaran, Yoshikuni e Nagahama (2004).

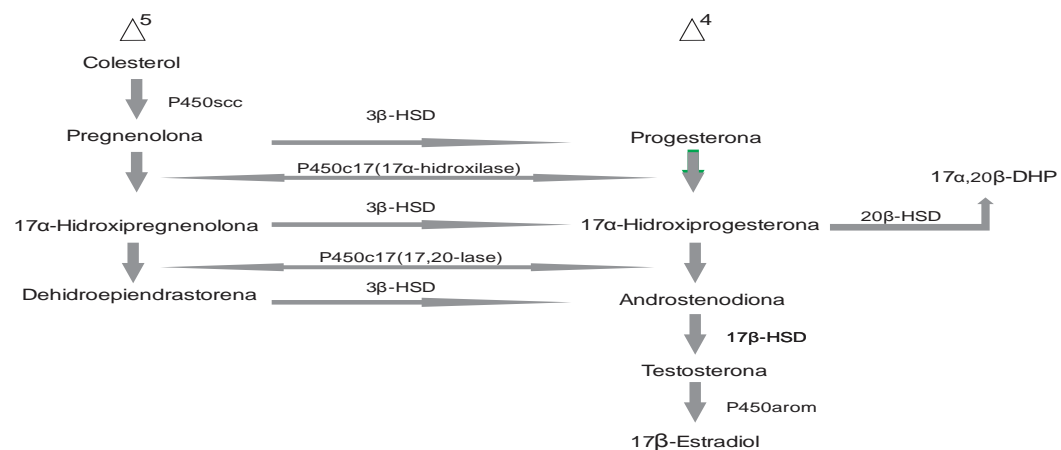
A síntese característica do E2 na vitelogênese e $17\alpha,20\beta$ -DHP na maturação oocitária é precedida por uma mudança brusca na via esteroidogênica do E2 para $17\alpha,20\beta$ -DHP nos folículos ovarianos, durante os instantes que antecedem a maturação dos oócitos. Essa mudança no tipo de esteroide produzido durante o desenvolvimento gonadal parece ser regulado primariamente por alterações na disponibilidade de enzimas esteroidogênicas em função de mudanças na expressão gênica que codificam essas proteínas/enzimas na fase de desenvolvimento gonadal

(SCOTT; SUMPTER; HARDIMAN, 1983; YARON, 1995; NAGAHAMA et al., 2008; YARON, 2011).

Adicionalmente há dois estágios importantes no processo de alternância na síntese desses esteroides. O primeiro é caracterizado pela mudança na síntese dos esteroide precursor da testosterona para 17 α -OHP, enquanto o outro estágio está relacionado com a mudança das enzimas esteroideogênicas, da P450arom para 20 β -HSD (Figura 3) (SENTHILKUMARAN; YOSHIKUNI; NAGAHAMA, 2004; NAGAHAMA et al., 2008).

O controle endócrino do ciclo reprodutivo na maioria das espécies, é um evento anual e cíclico, que se desenvolve ao longo das estações do ano, período em que há uma série de alterações em diversos parâmetros ambientais, que estão ou podem estar associados com a síntese dos GTHs e o processo de esteroideogênese. Por isso, a compreensão de como os fatores ambientais podem promover respostas na fisiologia reprodutiva em peixes, será abordada em detalhes no tópico seguinte.

Figura 3 - Via Esteroidogênica (Δ^4 e Δ^5) envolvida na biossíntese do E2 (vitelogênese) e 17,20-DHP (maturação).



Fonte: Adaptado de Nagahama e Yamashita (2008).

2.3 Fatores ambientais envolvidos na modulação da reprodução em peixes

Em peixes uma das características mais marcantes é a sazonalidade em que a fase de desenvolvimento e maturação do ciclo reprodutivo ocorrem, e o modo sincronizado com as alterações climáticas, principalmente o fotoperíodo,

temperatura e disponibilidade de alimentos, interferem nesta sazonalidade (BROMAGE et al., 2001; PANKHURST; PORTER, 2003).

Esse sincronismo está associado ao controle de processos endógenos, de forma que a prole seja gerada no período em que as condições ambientais sejam favoráveis à sua sobrevivência. Em espécies cujos habitats estão localizados em áreas de latitude média e elevada, esse período coincide com a elevação da temperatura e do fotoperíodo na primavera, enquanto que em espécies de clima tropical e subtropical esse período pode estar relacionado com a sazonalidade das chuvas.

Como ocorre em outros animais, os peixes respondem a estímulos ambientais que vão atuar na sincronização da maturação com as mudanças sazonais ao longo do ano. Esses estímulos, segundo Vazzoler (1996), são denominados de fatores proximais, que podem ser preditivos atuando em diferentes fases do desenvolvimento gonadal como no caso do fotoperíodo e temperatura. Os fatores considerados sincronizadores são aqueles que sinalizam condições favoráveis à desova, a exemplo da chuva ao atuar na maturação final dos gametas e no comportamento animal, viabilizando a fecundação e, os finalizadores (ex: redução do fotoperíodo e temperatura), aqueles que apontam o final do período reprodutivo em que pode haver a regressão gonadal.

Contudo, esses fatores devem ser capazes de promover o ciclo reprodutivo, desde que sua ação possa ser fisiologicamente detectável, previsível e geradora das alterações endócrinas responsáveis pela reprodução. Em regiões próximas a linha do equador, cujas amplitudes sazonais são pequenas, esses fatores ambientais podem não ser preditivos, sendo que uma pequena mudança ambiental pode tornar a reprodução viável (BROMAGE; WHITEHEAD; BRETON, 1982a; DUSTON; BROMAGE, 1986; MIDDAUGH et al., 1990; PANKHURST; PORTER, 2003).

De acordo com Bromage et al.(2001) e Pankhurst e Porter (2003), o fotoperíodo é tido como a única variável capaz de enviar um sinal inequívoco e determinante para o desenvolvimento e maturação gonadal em salmonídeos, pois seu estímulo individualmente ou combinado com outros fatores exerce papel primário e fundamental ao longo do ciclo reprodutivo, sendo ainda mais intenso em latitudes elevadas devido a maior amplitude do fotoperíodo (MAITRA et al., 2013).

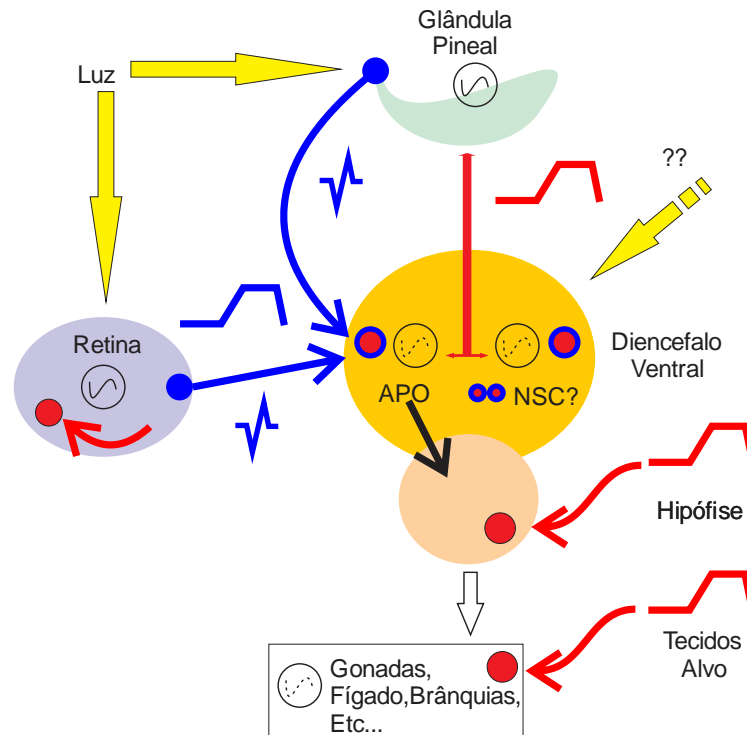
Essa amplitude do fotoperíodo molda ritmos fisiológicos ao influenciar o comportamento e processos endógenos, que podem ser circadianos ou circanuais, como no caso da reprodução (FALCÓN et al., 2007, 2010; RIBEIRO; GUIMARÃES, 2012). Falcón et al. (2010) relataram que o sistema circadiano compreende todos os componentes envolvidos na captação da luz para o organismo, e sua transformação em sinal nervoso e endócrino.

Nesse sentido, o mecanismo de regulação fotoneuroendócrino em peixes (Figura 4) se dá através da incidência da luz nas células fotorreceptoras presentes na glândula pineal e retina, responsáveis pela regulação do relógio biológico molecular, cuja sensibilização pela luz parece atuar sob estruturas fotorreceptoras na porção ventral do diencefalo, área pré-óptica (APO) hipotalâmica e órgãos periféricos (FALCÓN et al., 2007, 2010; MAITRA et al., 2013).

Dois tipos de informações rítmicas são gerados pela glândula pineal e retina, uma neural que vai atingir o diencefalo ventral através do trato retino-hipotalâmico e trato pineal, respectivamente, indicando a duração do fotoperíodo e oscilações fotoperiódicas repentinas, e uma informação hormonal gerada pela melatonina, cuja biossíntese reflete também a duração do fotoperíodo, bem como a estação do ano. (FALCÓN et al., 2010).

A melatonina sintetizada pela retina possui ação autócrina e parácrina, e por isso é metabolizada nessa estrutura, diferentemente do que ocorre com a melatonina de origem pineal, que ao ser liberada na corrente sanguínea e fluído cérebro-espinhal vai se ligar aos receptores de melatonina em alvos específicos (FALCÓN et al., 2010). No hipotálamo os receptores de melatonina presentes na região do núcleo supraquiasmático, considerado uma unidade oscilatória circadiana, modulam a síntese hormonal da hipófise, já que receptores da melatonina são encontrados em áreas que atuam no funcionamento desta, inclusive na área pré-óptica que recebe estímulos neuronais da glândula pineal e retina (FALCÓN et al., 2007, 2010).

Figura 4 - Regulação fotoneuroendócrina em peixes. Legenda: **Seta amarela** – estímulo luminoso; **Seta azul** – resposta fisiológica; **Em vermelho** – receptores de melatonina; **APO** – área pré-óptica hipotalâmica; **NSC** – núcleo supraquiasmático.



Fonte: Adaptado de Falcón et al. (2010).

No contexto da piscicultura, os mecanismos envolvidos no ritmo circanual da reprodução e no modo como a sincronização ocorre em teleósteos, ainda precisam ser esclarecidos. A maioria dos estudos estão concentrados em espécies de clima temperado, por possuírem um período reprodutivo restrito a alguns meses do ano, característica pouco desejada por piscicultores já que a disponibilidade de juvenis só é possível uma vez ao ano, em um curto período (BROMAGE; PORTER; RANDALL, 2001; FALCÓN et al., 2007, 2010; PANKHURST; PORTER, 2003).

Partindo da observação de que ovinos, cervos e algumas espécies de plantas possuíam uma maior atividade sexual quando ocorria a diminuição do fotoperíodo, Hoover (1937) submeteu um grupo de trutas (*Salvelinus fontinalis*), às variações do fotoperíodo anual em um período de 40 semanas, utilizando-se de condições de cultivo controladas, observando que houve uma antecipação de 3-4 meses na desova em relação aos espécimes mantidos no habitat natural.

A partir de noções da ação moduladora do fotoperíodo no ritmo circanual e sua interferência no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, uma série de experimentos de manipulação do fotoperíodo foram realizados objetivando estender o período reprodutivo e com isso a disponibilidade de juvenis por mais meses ao ano, como no caso dos salmonídeos (BROMAGE et al., 1984; DUSTON; BROMAGE, 1986; BROMAGE; PORTER; RANDALL, 2001)

Desde então, fotoperíodos constantes e variáveis foram testados visando identificar o padrão de crescimento, perfil dos hormônios reprodutivos, maturidade reprodutiva e a manipulação do período reprodutivo em uma variedade de espécies. Em *Oncorhynchus mykiss* (BON et al., 1999; BROMAGE; WHITEHEAD; BRETON, 1982b; BROMAGE et al., 1992, 1984; DAVIES; BROMAGE; SWANSON, 1999; DUSTON; BROMAGE, 1986; WHITEHEAD et al., 1978), *Dicentrarchus labrax* (BAYARRI et al., 2003; RODRÍGUEZ et al., 2001; ZANUY et al., 2001), *Salmo salar* (BJÖRNSSON et al., 1994; ENDAL et al., 2000; PORTER et al., 1999; TARANGER et al., 1999), *Gadus morhua* (DAVIE; PORTER; BROMAGE, 2003; HANSEN et al., 2001; NORBERG et al., 2001), *Hippoglossus hippoglossus* (HALLDORSSON; HAUX; BJORNSSON, 1998; NORBERG et al., 2001) e outras espécies de clima temperado.

Apesar do papel central do fotoperíodo na reprodução, a temperatura parece estar intimamente relacionada com a reprodução. Para Pankhurst e Munday (2011) a temperatura é um fator de regulação fisiológica fundamental em peixes, cujos efeitos são percebidos em todos os processos envolvidos na reprodução, passando pelo desenvolvimento e maturação dos gametas, ovulação e espermiacão, desova, embriogênese, eclosão, desenvolvimento de larvas e juvenis e, também, a sobrevivência.

A interação desta variável com o fotoperíodo possibilita a sincronização dos estágios finais da reprodução no momento em que as condições ambientais são mais propícias para sobrevivência da prole, sinalizando o fim e retomada de um novo ciclo reprodutivo (VAN DER KRAAK; PANKHURST, 1996; PANKHURST; PORTER, 2003).

Os efeitos da temperatura no ciclo reprodutivo em peixes ainda são pouco compreendidos, podendo se expressar de formas distintas dependendo do período

do ciclo termal em que ocorre a desova, destacando-se o aumento da temperatura como necessário para permitir a maturação nas espécies que desovam na primavera e início do verão. Enquanto que temperaturas elevadas atrasam o começo da maturação e a desova em espécies que desovam no outono (SHIMIZU, 2003; PANKHURST; KING, 2010).

As oscilações na temperatura promovem variações de expressão gênica e atividade enzimática nas etapas críticas da cascata hormonal (PANKHURST; PORTER, 2003). Em espécies que desovam na primavera, o aumento da temperatura ocasiona alterações no padrão da esteroidogênese, ocorrendo a maturação em resposta à elevação da temperatura, que também parece afetar a atividade da enzima aromatase (P450arom), uma vez que há uma faixa de limite térmico, mínimo e máximo, em que ocorre o aumento da síntese, atividade e metabolismo hormonal, denominada de faixa de tolerância fisiológica, que ao se aproximar dos limites geram a diminuição da atividade hormonal (DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; PANKHURST; KING, 2010).

De acordo com Van Der Kraak e Pankhurst (1996) e Devlin e Nagahama (2002), a temperatura promove modificações na estrutura molecular e funcional das proteínas/enzimas, aumentando a solubilidade dos hormônios esteroides sob altas temperaturas, ocasionando a sua perda de permeabilidade junto à bicamada lipídica da membrana celular, ficando susceptível à filtragem renal. E a partir desse embasamento teórico, os efeitos de diferentes temperaturas e suas respectivas respostas fisiológicas foram investigados em *Salmo salar* (KING; PANKHURST; WATTS, 2007; ANDERSON et al., 2012), *Odontesthes bonariensis* (ELISIO; CHALDE; MIRANDA, 2012), e *Solea senegalensis* (GARCÍA-LÓPEZ et al., 2006), e *Fundulus heteroclitus* (SHIMIZU, 2003).

Outra variável ambiental importante é o Oxigênio Dissolvido (O₂D), que devido à sua interação com a temperatura não pode ser analisado de forma isolada. De acordo com Kubitza (2003) a dinâmica do O₂D é afetada pela temperatura, que ao se elevar ocasiona a diminuição da solubilidade do oxigênio na água, uma vez que segue a Lei de Henry, a qual estabelece que a solubilidade de um gás em um líquido é proporcional à pressão parcial deste gás em contato com este líquido, dada pela fórmula matemática (BAIRD, 2002):

$$[\text{O}_2(\text{aq})] = K_H \cdot \text{PO}_2.$$

Em que, $[\text{O}_2(\text{aq})]$ é a concentração do gás, PO_2 é a pressão parcial do gás, e K_H é a constante de Henry, sendo que cada gás possui um valor específico de K_H para uma determinada temperatura, cujos valores decrescem com o aumento da temperatura devido à maior agitação e liberação das moléculas desse gás do líquido, o que justifica a redução da solubilidade do O_2 na água em temperaturas elevadas.

Em peixes a interação destes fatores gera uma série de respostas e ajustes fisiológicos. Experimentos simulando condições de hipóxia demonstraram implicações para o desenvolvimento gonadal, para a produção e a qualidade dos gametas, bem como a possibilidade de redução nas taxas de fertilidade e eclosão (WU, 2009).

Há evidências de que no eixo reprodutivo, a síntese dos esteroides sexuais e as enzimas envolvidas na esteroidogênese e vitelogênese em peixes, são afetadas pela baixa concentração de O_2 , ocasionadas provavelmente por alterações na expressão dos genes responsáveis pela codificação dessas enzimas, e pela demanda de oxigênio molecular na esteroidogênese, o que justifica os registros dos baixos níveis plasmáticos desses esteroides em peixes sob condições de hipóxia (WU, 2002; RAFF; BRUDER, 2006; WU et al., 2009; LU et al., 2014).

Estas inferências foram geradas a partir de estudos de exposição a hipóxia e seus efeitos nos níveis dos esteroides sexuais em *Cyprinus carpio* (WU et al., 2003), *Fundulus grandis* (LANDRY et al., 2007), *Micropogonias undulatus* (THOMAS; RAHMAN, 2012; THOMAS et al., 2006) e, com os avanços na área da biologia molecular, os mecanismos de expressão gênica envolvidos nessas alterações começaram a ser compreendidos em *Danio rerio* (MARTINOVIC et al., 2009; LU et al., 2014) e *Pimephales promelas* (HALA et al., 2012).

A condição ectotérmica em inúmeras espécies de peixes os tornam susceptíveis às alterações nos parâmetros das variáveis químicas da água. Entre essas variáveis, o pH pode ser considerado um dos mais importantes, sendo definido como o logaritmo negativo da concentração de íons H^+ na água, parametrizado por uma escala que vai de 0 a 14, e dependendo da concentração de

íons H^+ ser maior, menor ou em equilíbrio com OH^- , a natureza do meio é classificada respectivamente, em ácido ($pH < 7$), básico ($pH > 7$) e neutro ($pH = 7$) (KUBTIZA, 1998, 2003).

Em condições ambientais naturais essa variável pode ser influenciada por sais, ácidos e bases presentes no meio (ESTEVES, 1998), mais também pela dinâmica do aumento no índice de precipitação pluviométrica que está associado a diminuição do pH, devido a diluição dos íons Ca^+ o que compromete o sistema tampão da água, como já foi observado em rios (NAIME; FAGUNDES, 2005; VERONEZ, 2011), lagoas (FONTES et al., 2012) e em pisciculturas no Estado de São Paulo (MERCANTE et al., 2005).

No contexto fisiológico essa variável interfere na atividade enzimática, já que um determinado valor de pH ou intervalo dessa variável pode modular a atividade de uma determinada enzima, uma vez que a estrutura molecular do sítio ativo enzimático é garantida por um estado de ionização específico, cuja interação entre as cadeias laterais dos aminoácidos no sítio ativo estabilizam a configuração ativa da enzima. Entretanto variações de pH podem gerar alterações no estado iônico das cadeias laterais dos aminoácidos no sítio ativo, desestabilizando a conformação ativa da enzima, comprometendo a formação do complexo enzima-substrato (FROMM, 1980; LEHNINGER, 2006; MORAN et al., 2013).

Em artigo de revisão abordando os efeitos da acidificação na reprodução de peixes, Ikuta et al. (1976) relataram anormalidades nos níveis plasmáticos dos esteroides sexuais em salmonídeos quando expostos a um meio ácido, sugerindo a interferência do pH no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, da mesma forma como foi observado por Ogawa et al. (2001) em *Cyprinus carpio*. Adicionalmente aos efeitos do pH como fator individual é importante destacar o papel deste como possível potencializador de efeitos tóxicos de poluentes, agindo como um disruptor endócrino em espécies ícticas (CORREIA et al., 2010).

Contudo as implicações dos fatores ambientais na biossíntese dos esteroides sexuais estão esclarecidas em salmonídeos e outras espécies de clima temperado como relatado por Pankhurst e Porter (2003), mas persiste a carência de estudos nesse segmento em espécies neotropicais, motivo que levou este estudo com a espécie caracterizada no tópico a seguir.

2.4 Caracterização da espécie *Brycon amazonicus*

Amplamente conhecida, consumida e apreciada na culinária da Região Amazônica, o matrinxã (*Brycon amazonicus*) ocupa a 11ª colocação na lista das principais espécies cultivadas no Brasil, e também se enquadra entre as espécies de interesse comercial na pesca extrativa continental (IZEL; MELO, 2003; RUFFINO; ROUBACH, 2010; BRASIL, 2011;). Nas demais regiões brasileiras seu cultivo está também atrelado ao consumo, mas principalmente ao segmento de pesque-pague, por conta do comportamento voraz e esportivo da espécie (MELO; STIPP, 2001).

Taxonomicamente a espécie *Brycon amazonicus* (Spix e Agassiz, 1839), popularmente conhecida como matrinxã, pertence à classe Actinopterygii, ordem dos Characiformes, família Characidae e gênero *Brycon*. Apesar de o gênero possuir taxonomia confusa, em revisão de Reis, Kullander e Ferrari (2003) verificou-se que a espécie *Brycon cephalus* encontrada na Bacia Amazônica e introduzida em outras bacias hidrográficas brasileiras, é de fato a *Brycon amazonicus* (Figura 5), uma vez que a distribuição da espécie *Brycon cephalus* fica restrita ao alto Rio Amazonas, no Peru e Bolívia (GOMES; URBINATI, 2010; REIS, KULLANDER; FERRARIS, 2003). Possui hábito alimentar onívoro com dieta a base de sementes, frutos, flores, restos vegetais, plantas herbáceas, aracnídeos, insetos e restos de peixes, evidenciando seu papel, tanto como espécie predadora, quanto dispersora de sementes e frutos. No habitat natural buscam os alimentos em áreas de mata alagada e margens de cursos d'água com mata ciliar abundante (PIZANGO PAIMA; PEREIRA FILHO; OLIVEIRA PEREIRA, 2001).

Figura 5 - Exemplar de *Brycon amazonicus*.



Fonte: Cristiane Bashiyo (2015)

Esta espécie atinge a maturidade sexual por volta dos 3 anos de idade no habitat natural, podendo ser reduzida para faixa 2 anos de idade, tanto para machos, quanto para fêmeas quando em cativeiro. O período reprodutivo da espécie tem início no período chuvoso e se estende de dezembro a janeiro no habitat natural (GOMES; URBINATI, 2010).

As alterações morfológicas gonadais que ocorrem no ciclo anual, no habitat natural, são também observadas em condições de cativeiro. Mas as condições impostas pelo cativeiro impedem a reprodução, uma vez que apesar da vitelogênese completar-se, não há a maturação oocitária, sendo a reprodução viabilizada somente pela aplicação de hormônios gonadotrópicos (extratos hipofisários de carpa) e/ou hipotalâmicos (GnRH e análogos) (FILHO; WEINGARTNER, 2007; MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010; ROMAGOSA et al., 2000, 2001).

Mediante às características apresentadas, a importância ecológica desta espécie, e frente à carência de estudos sobre a participação e modulação de variáveis ambientais na biossíntese do E2 em espécies de ambiente tropical, *Brycon amazonicus* foi o modelo escolhido para este trabalho.

3 OBJETIVO GERAL

Determinar a possível correlação de variáveis ambientais com a concentração plasmática do esteroide sexual 17β -Estradiol (E2) durante o ciclo circanual em fêmeas de Matrinxã (*Brycon amazonicus*) em ambiente de cativeiro, visando a aplicabilidade na produção sustentável e conservação das espécies do gênero.

3.1 Objetivos Específicos

- Determinar a correlação de variáveis ambientais (fotoperíodo, temperatura, O₂D, pH, precipitação pluviométrica, transparência e condutividade) com a concentração plasmática do esteroide sexual 17β -Estradiol (E2) em fêmeas de *Brycon amazonicus* mantidas em cativeiro.
- Caracterizar o perfil endócrino do esteroide sexual 17β -Estradiol (E2) de fêmeas de *Brycon amazonicus* mantidas em cativeiro, durante o ciclo circanual.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de realização e condições de manejo

O experimento foi conduzido no período de maio de 2014 a abril de 2015 no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (CEPTA/ICMBio), localizado no município de Pirassununga/SP.

Foram amostrados 64 exemplares de *B. amazonicus*, provenientes do plantel do CEPTA/ICMBio, com peso médio de $910 \pm 142,97$ g e comprimento total de $39,79 \pm 1,83$ cm, mantidos num sistema de produção semi-intensivo com renovação parcial de água, estocados em viveiro de alvenaria (5x15m), e alimentados uma vez ao dia a taxa de 5% do peso vivo com ração comercial contendo os respectivos níveis de garantia: 24% Proteína Bruta, 5% Extrato Etéreo, 4% Matéria Fibrosa, 10% Matéria Mineral, 1% Cálcio (mín.), 3% Cálcio (máx.), 0,8% Fósforo (mín.) e 10% Umidade.

Os procedimentos e manejos adotados foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do CEPTA/ICMBio (Processo 02031.000009/2015-73) e homologado pela Comissão de Ética no Uso Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”, UNESP, Campus de Ilha Solteira.

4.2 Coleta de material biológico

4.2.1 Identificação dos espécimes e Coleta de Material Biológico

Os exemplares de *B. amazonicus* foram previamente anestesiados e identificados através de microchip-RFID (Animal Tag[®]), cujo local de aplicação foi padronizado ao lado esquerdo da base da nadadeira dorsal, seguindo orientações do próprio fabricante.

As amostras de sangue foram coletadas de todos os exemplares com frequência mensal, iniciando no mês de maio de 2014, seguido de um período de 3 meses (junho, julho e agosto) em que as coletas foram suspensas devido à baixa

temperatura, e então retomadas entre os meses de setembro de 2014 a abril de 2015 de forma ininterrupta.

O procedimento de captura consistiu na retirada dos espécimes com rede de arrasto do viveiro de estocagem e transportados até o laboratório de reprodução em sacos plásticos contendo água do viveiro, na densidade de 5 peixes/saco. No laboratório os animais foram acondicionados em tanques de manejo por cerca de 40 minutos até a coleta propriamente dita.

Ao iniciar a amostragem, de 5 a 8 animais eram capturados dos tanques de manejo com puçá e colocados em caixa de PVC de 180L contendo o anestésico 2-Fenoxietanol (Sigma Aldrich®) diluído na proporção de 0,4mL/L de água (MENDONÇA et. al, 1993 apud ROUBACH;GOMES, 2001), até que os espécimes atingissem o estado de anestesia leve.

Observada a perda parcial de equilíbrio, um espécime por vez era colocado na mesa de manejo e coletado um 1mL de sangue, por punção do vaso caudal, com seringas de 3mL heparinizadas (Hepamax-S® - 5.000 U.I./mL). Cada amostra era transferida para Tubos Falcon de 15mL heparinizados (Hepamax-S® - 5.000 U.I./mL), homogeneizada e imediatamente centrifugada a 1.006g/10min (Centrífuga-Quimis®). Paralelamente era realizado o levantamento biométrico, comprimento total (Ictiômetro-Wildco®) e massa (Balança-Filizola®), seguido da devolução dos espécimes ao viveiro.

Após a centrifugação, foi coletada a porção plasmática do sangue com pipetas Pasteur, fracionada em 4 criotubos de 2mL e transferidas para um “container” criogênico do tipo “Dry Shipper” (MVE® XC14/3V)(-196°C). Sendo posteriormente armazenadas em Biofreezer (So-low® Premier Freezer) (-80°C) no Depto. de Biologia e Zootecnia, Campus da UNESP/FEIS.

Ao término de todas as coletas, as amostras foram levadas em gelo seco (-78°C) para o LAMEROA (Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos) / USP, para ao procedimento de quantificação hormonal do Estradiol (E2) via ensaio imunoenzimático.

4.2.2 Elisaimunoensaio (ELISA) e Validação do Kit Comercial

Entre os 64 exemplares amostrados foram selecionados ao acaso 13 espécimes do sexo feminino de *Brycon amazonicus*, que tiveram a concentração plasmática do E2 determinada para todo período experimental.

Foram utilizados Kits Comerciais IBL-ELISA[®] de E2 de fase sólida, baseados no princípio da competição, em que os antígenos presentes na amostra e os antígenos marcados pela enzima peroxidase competem pelos anticorpos aderidos à parede de cada poço da microplaca. Os procedimentos adotados seguiram as recomendações do próprio fabricante (IBL, 2010).

As leituras das microplacas foram realizadas em leitora de microplacas Molecular Devices[®] SpectraMAX 340PC, num comprimento de onda de 450nm, e os resultados gerados pelo software Molecular Devices[®] SoftMax Pro.

Na validação do kit comercial foram utilizadas as metodologias propostas por Honji (2007) e Moreira (1999) para determinação do coeficiente de variação intra ensaio, que consistiu na quantificação de cada amostra em duplicata numa mesma microplaca. O coeficiente de variação inter ensaio foi realizado através da quantificação de uma mesma amostra (duplicata) em microplacas e tempos diferentes.

Para taxa de recuperação foi utilizada a fórmula: $\%R = (C1/C2) \cdot 100$, onde C1 corresponde a concentração obtida experimentalmente e C2 a concentração teórica conhecida, disponível nos controles (0, 25, 100, 250, 500, 1.000 e 2.000 pg/mL) que acompanham o kit IBL-ELISA[®] de E2.

4.3 Coleta dos Dados Ambientais

4.3.1 Variáveis físico-químicas da água

As variáveis físico-químicas de oxigênio dissolvido (O2D), condutividade (uS/cm) e pH da água foram coletadas com frequência diária no período da manhã através da utilização de sonda multiparamétrica HORIBA[®].

A transparência (cm) foi mensurada por Disco de Secchi diariamente e a temperatura da água (°C) registrada a cada 30 minutos através de Data Logger HOBO® instalado a 30cm de profundidade a partir da lâmina d'água do tanque.

4.3.2 Variáveis Meteorológicas

Foram fornecidos diariamente, e ao longo de todo período experimental dados do índice de precipitação pluviométrica (mm) pela Estação Meteorológica da Universidade de São Paulo/USP/Pirassununga.

Para determinação do fotoperíodo foi utilizado GPS Garmin® Etrex que forneceu o horário de nascimento e pôr do sol para coordenada do viveiro de estocagem (Lat. 21° 55' 52.9"S; Long. 47° 22' 29"W), o que permitiu estimar o fotoperíodo de todos os dias em que o experimento esteve em andamento.

4.4 Análise Estatística

Foi utilizada a análise exploratória de dados multivariados pelo método da Análise de Componentes Principais (PCA), por permitir a visualização da correlação entre as variáveis analisadas (biológica e ambientais) de forma simultânea, cujos resultados foram interpretados e representados graficamente por Biplot (GABRIEL, 1971).

Posteriormente foram estabelecidos modelos lineares das concentrações plasmáticas do E2 em função de cada variável ambiental (fotoperíodo, temperatura, oxigênio dissolvido, índice pluviométrico, condutividade, transparência e pH), e uma vez que as análises dos resíduos de cada modelo não apresentaram normalidade quando submetidas ao teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$), foi aplicada a correlação não-paramétrica de Spearman ($p > 0,05$).

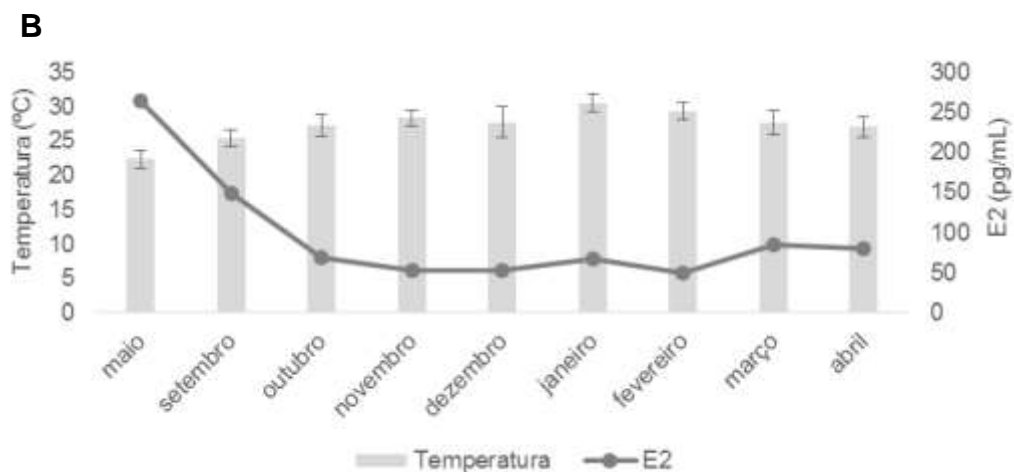
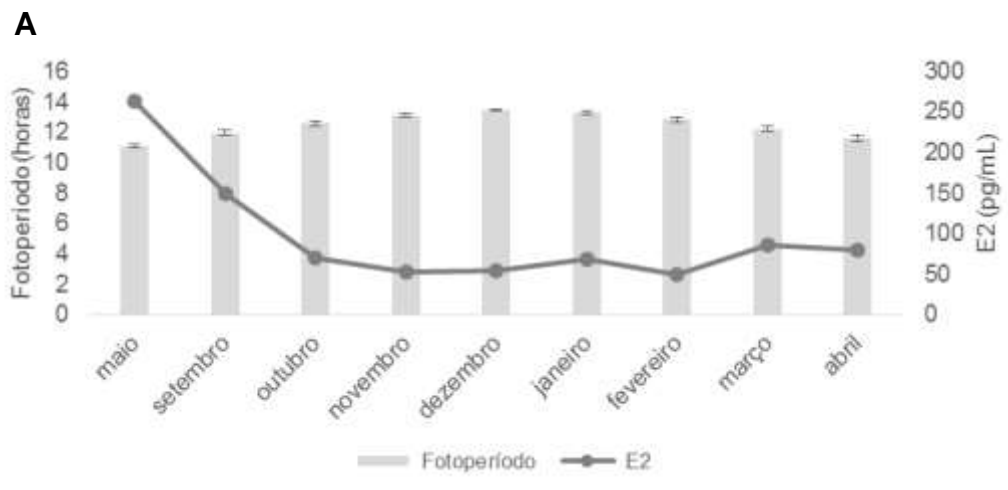
As concentrações plasmáticas mensais do E2 foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$) por não atenderem a premissa de normalidade quando aplicado o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$).

5 RESULTADOS

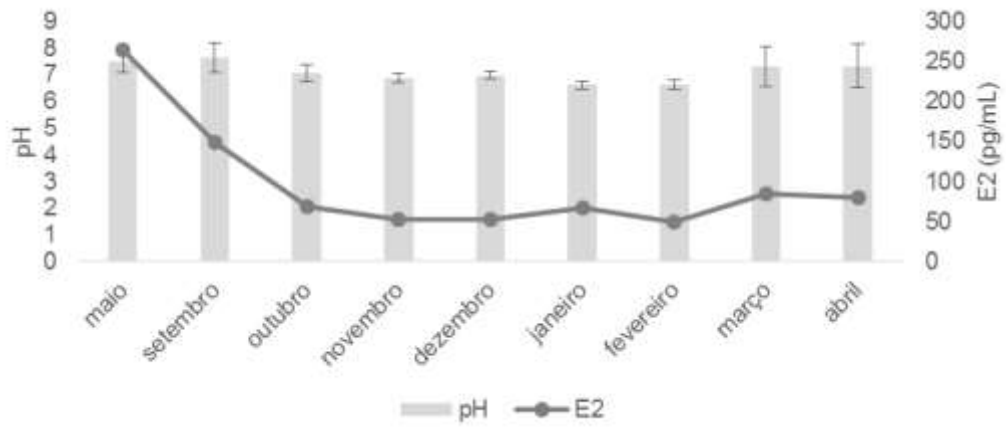
Os exemplares de *Brycon amazonicus* ao término do período experimental apresentaram massa de $953,59 \pm 108,4\text{g}$ e comprimento total de $39,24 \pm 1,48\text{cm}$.

A amplitude das variáveis ambientais de fotoperíodo, temperatura, pH, O₂D, precipitação pluviométrica, condutividade e transparência da água observadas neste experimento estão na Figura 6.

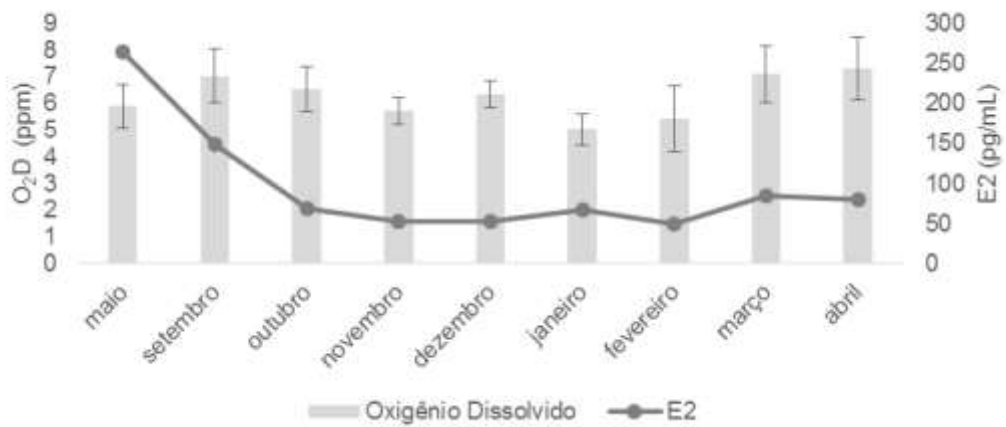
Figura 6 - Valores das concentrações plasmáticas do estradiol (média) e das variáveis ambientais (média e desvio-padrão) de fotoperíodo (A), temperatura (B), pH (C), O₂D (D), precipitação pluviométrica (E), condutividade (F) e transparência da água (G) no período experimental.



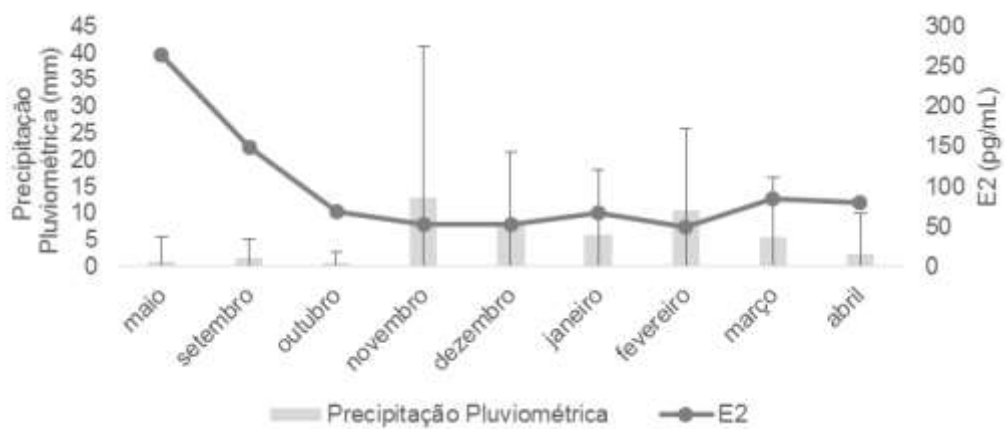
C



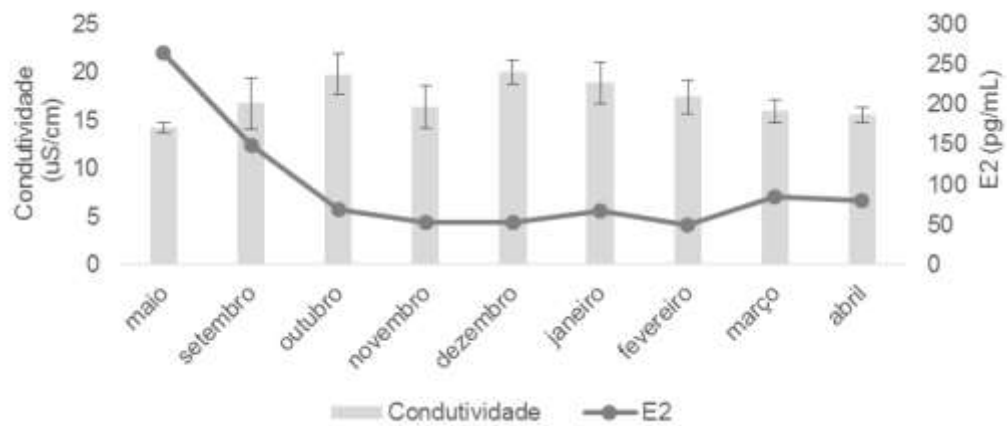
D



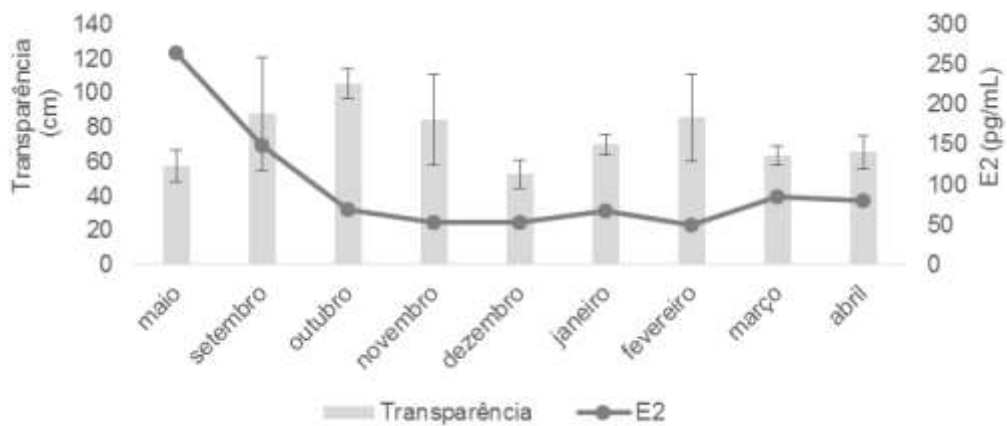
E



F



G



Fonte: Elaboração do próprio autor.

A validação do kit-ELISA IBL® para o plasma sanguíneo de *B. amazonicus* foi realizada em conformidade com os procedimentos detalhados no item 4.2.2., cujos resultados intra ensaio, inter ensaio e a taxa de recuperação são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultado da validação do Kit-ELISA IBL® E2 para o plasma sanguíneo de fêmeas de *Brycon amazonicus*. Legenda: n – unidades experimentais; C.V – coeficiente de variação.

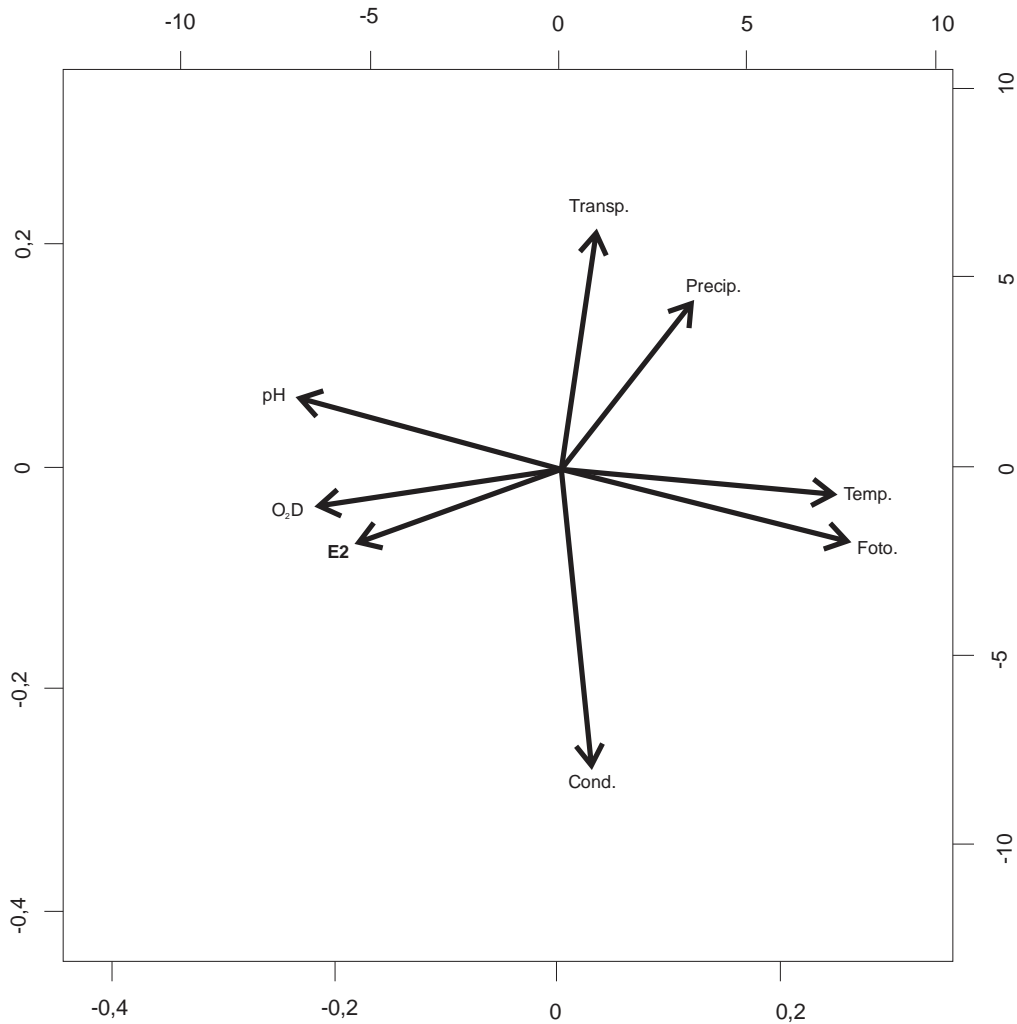
Hormônio	n	C.V. Intra ensaio (%)	C.V. Inter ensaio (%)	Recuperação (%)
E2	13	5,45±3,96	9,15±7,34	101,19±8,59

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Após a Análise de Componentes Principais e a geração do gráfico Biplot (Fig. 7), a interpretação da correlação entre as variáveis analisadas se deu através do ângulo (co-seno) e sentido formado entre os vetores.

Dessa forma, infere-se que a variável biológica (E2) pode estar simultaneamente correlacionada com a variável ambiental de O2D e pH de forma direta, ao mesmo tempo que se correlaciona de forma negativa com o fotoperíodo, temperatura e precipitação pluviométrica, sendo pouco provável a associação do E2 com as variáveis de condutividade e transparência da água (Fig. 7).

Figura 7 - Biplot da correlação entre as variáveis analisadas. Legenda: **E2** – Estradiol; **O₂D** – Oxigênio dissolvido; **pH** – potencial hidrogeniônico; **Transp.** – Transparência da água; **Precip.**- Precipitação pluviométrica; **Temp.**- Temperatura da água; **Foto.**- Fotoperíodo; **Cond.**- Condutividade da água.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os resultados da análise de correlação de Spearman (Tab. 2) confirmam as evidências geradas pela PCA, de que a variação da concentração plasmática do E2 apresentou uma correlação inversa ao fotoperíodo, a temperatura e a precipitação pluviométrica (Fig.7), uma correlação direta com a variação do pH e do O₂D, mas não detectando nenhuma interação com os parâmetros de transparência e condutividade da água.

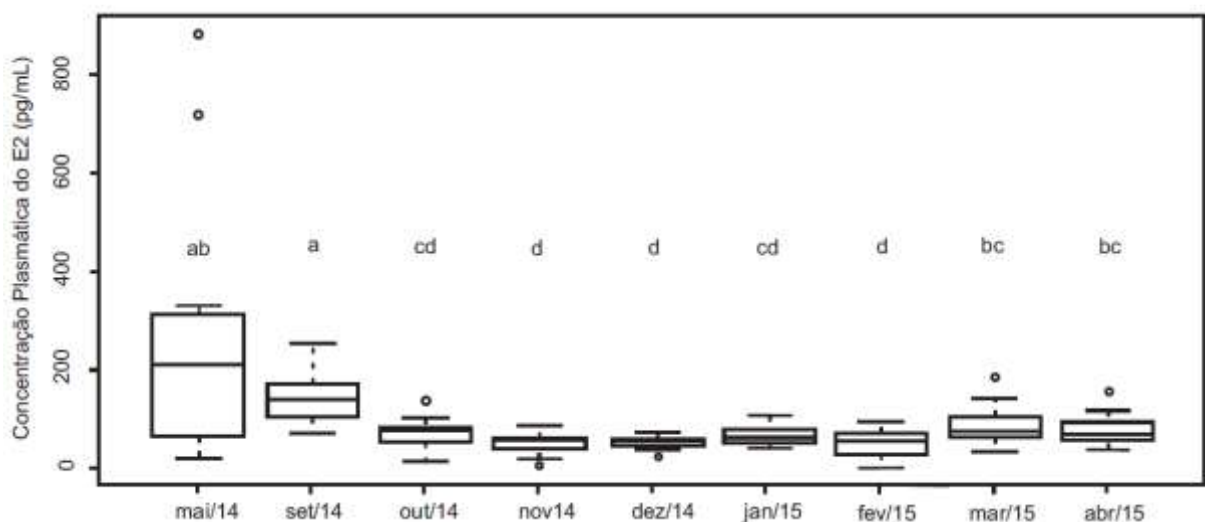
Tabela 2 - Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis ambientais e as concentrações plasmáticas do E2 em fêmeas de *Brycon amazonicus*.

Variáveis Ambientais	ρ	Valor-p
Fotoperíodo (horas)	-0,41	0,00469
Temperatura (°C)	-0,31	0,0000125
pH	0,38	0,000000644
Oxigênio Dissolvido (ppm)	0,28	0,000127
Precipitação Pluviométrica (mm)	-0,42	0,0000000168
Transparência (cm)	-0,006	0,9278805
Condutividade (uS/cm)	-0,13	0,07600894

Fonte: Elaboração do próprio autor.

As concentrações plasmáticas do E2 (Fig.8) obtidas durante o período experimental geraram um perfil hormonal caracterizado por concentrações mais elevadas no mês de maio/14 (outono) e setembro/14 (inverno/primavera), seguido de uma redução significativa em outubro/14 (primavera) permanecendo em baixas concentrações até fevereiro/15, quando então houve a retomada do aumento na concentração desse esteroide nos meses seguintes, respectivamente março/15 (verão/outono) e abril/15 (outono).

Figura 8 - Perfil anual da concentração plasmática do E2 (pg/mL) em fêmeas de *Brycon amazonicus* mantidas em cativeiro.



Nota: * Concentrações plasmáticas mensais do E2 (n=13/amostragem) seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Fonte: Elaboração do próprio autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 Correlação do fotoperíodo com a concentração plasmática do E2

A relação inversa da concentração plasmática do E2 com o fotoperíodo detectada neste estudo, soma-se as afirmações de Bromage, Porter e Randall (2001) e Pankhurst e Porter (2003) de que esse fator ambiental garante um sinal inequívoco e determinante para o desenvolvimento e maturação gonadal, ao atender as premissas sugeridas por Sumpter (1990), de que uma variável deve ser preditiva, cíclica e promover uma resposta fisiológica possível de ser mensurável para ser considerada um fator ambiental determinante na reprodução em peixes.

Nesse mesmo sentido Barbieri, Salles e Cestaroli (2000) obtiveram resultados semelhantes ao deste estudo, ao verificar a influência de fatores abióticos nos estágios gonadais em *Salminus maxillosus* e *Prochilodus lineatus* capturados no Rio Mogi Guaçu, atribuindo ao fotoperíodo uma ação preditiva por sua atuação em todos os estágios do desenvolvimento gonadal nessas espécies.

Alia-se aos nossos resultados e aos autores acima citados, o relato de Falcón et al. (2010) de que as mudanças na duração do fotoperíodo promovem alterações no perfil da melatonina, e esta exerce papel regulador na síntese do E2 (MAITRA et al., 2013), como também na modulação da *kisspeptina*, um neuropeptídeo decisivo na atividade reprodutiva em peixes (TENA-SEMPERE et al. 2012). Por outro lado, Iseki et. al. (2008), sob condições geográficas similares ao de nosso experimento, trabalhando com fêmeas de *Piaractus mesopotamicus* mantidas num sistema de criação semi-intensivo, não constataram correlação da concentração plasmática do E2 com o fotoperíodo, resultado que difere ao deste estudo e aos dados já levantados. Este resultado pode ser gerado pela metodologia utilizada, pois os autores sacrificavam os reprodutores a cada coleta de sangue, o que pode ter gerado uma grande variabilidade nos dados.

Ao investigar o nível dos esteroides sexuais durante a vitelogênese em *Prochilodus lineatus*, Hainfellner et al. (2012) registraram níveis plasmáticos crescentes de E2 do mês de agosto até dezembro, com o início da vitelogênese entre os meses de setembro e outubro (Primavera), enquanto que os dados coletados em nosso experimento geraram um perfil hormonal do E2 diferente, com

as menores concentrações desse esteroide registradas no período de outubro e fevereiro, redução que pode ser atribuída ao ritmo biológico da espécie amazônica *Brycon amazonicus* e ao mecanismo de feedback negativo, em que a redução da concentração plasmática do E2 é condição indispensável para retomada da meiose na fase de maturação final de acordo com Yaron e Levavi-Sivan (2011).

No período compreendido entre o outono e o inverno (março-setembro), em que há naturalmente a redução do fotoperíodo, as concentrações mais altas do E2 foram registradas neste estudo, revelando uma dinâmica hormonal inversa em relação as espécies em que o período reprodutivo ocorre no outono-inverno como observado por Bromage, Whitehead e Breton (1982a) com *Salmo gairdneri*, em que a elevação dos níveis plasmáticos do E2 nessa espécie acompanhou o aumento do fotoperíodo, sendo o mesmo comportamento observado por Taranger et al.(1999) em *Salmo salar*, provavelmente por uma condição fotoperiódica em que o perfil da melatonina favoreceu a biossíntese e secreção do FSH, tido para Yaron e Levavi-Sivan (2011) como o GTH indispensável na regulação da secreção do E2.

6.2 Correlação da temperatura e oxigênio dissolvido com a concentração plasmática do E2

Nossos resultados demonstraram uma correlação negativa entre as concentrações plasmáticas do E2 e a temperatura. Van Der Kraak e Pankhurst (1996) afirmam que o aumento da temperatura pode promover alterações no perfil endócrino do E2, e que, para dinâmica normal do ciclo reprodutivo se faz necessária a diminuição da atividade da enzima P450arom, que reduz a biossíntese do E2, viabilizando a elevação do MIS pelo aumento da atividade enzimática da 20B-HSD sobre a 17 α -OHP garantindo a maturação final (SENTHILKUMARAN; YOSHIKUNI; NAGAHAMA, 2004).

Para Van Der Kraak e Pankhurst (1996) em condições de temperatura elevada, variável entre as diferentes espécies, os hormônios esteroides são convertidos a forma biologicamente inativa de glucano (solúvel em água), perdendo a capacidade de difusão junto à membrana plasmática, não atingindo os receptores

intracelulares, e assim ficando susceptíveis a filtração renal e eliminação urinária, com a consequente redução dos níveis circulantes.

Em estudo com as espécies *Prochilodus lineatus* e *Salminus maxillosus* capturadas no Rio Mogi Guaçu, Barbieri, Salles e Cestarolli (2000) determinaram a temperatura como um fator ambiental preditivo na reprodução dessas espécies, estando essa variável associada aos diferentes estágios gonadais e índice gonadossomático. Enquanto que Iseki, Negrão e Castrucci (2008) ao avaliarem as variações sazonais das concentrações plasmáticas do E2, não constataram nenhuma correlação com a temperatura em fêmeas da espécie *Piaractus mesopotamicus*, resultado que pode ser atribuído à metodologia utilizada, uma vez que as avaliações foram feitas em indivíduos diferentes, o que ocasionou a perda de valores circadianos, e o intervalo entre coletas foi maior que neste estudo.

Da mesma forma como foi verificado em nosso trabalho, Shimizu (2003) com a espécie *Fundulus heteroclitus*, também demonstrou uma relação inversa da temperatura com a concentração plasmática do E2. E para Watts, Pankhurst e King (2004) as implicações da elevação da temperatura na síntese do E2 é ocasionada pela supressão da atividade da enzima aromatase, o que diminui a eficiência na metabolização da Testosterona em E2, ao se difundir da camada teca para camada granulosa.

A diferença entre o perfil da concentração plasmática do E2 em *B. amazonicus* e do perfil gerado por Hainfellner et al. (2012) para espécie reofílica *Prochilodus lineatus*, pode ser creditada a uma faixa de temperatura ótima diferente entre as duas espécies, assim como a adoção de uma metodologia diferente à utilizada neste experimento, pois as coletas foram bimensais e os animais amostrados eram abatidos logo após a coleta de sangue para retirada das gônadas, o que não permitiu acompanhar as variações do E2 no mesmo espécime.

As baixas temperaturas do outono-inverno proporcionaram uma maior solubilidade do O₂D devido à elevação nos valores de referência da constante de Henry como relatado por Baird (2002) e Kubtiza (2003). As características dessa variável no mês de maio/15 e setembro/14 favoreceram os registros elevados na concentração plasmática do E2 neste estudo.

Nossas observações corroboram com as afirmações de Wu et al. (2009), e Raff e Bruder (2006) de que a via esteroidogênica necessita do oxigênio molecular para o processo de biossíntese dos esteroides sexuais. Sendo as menores concentrações do E2 observadas neste estudo na primavera-verão, período em que há naturalmente uma menor disponibilidade de O₂D.

Outro estudo que confirma nossas observações foi realizado por Arantes et al.(2010), que também demonstraram que diante de um cenário de baixa concentração de O₂D, os menores níveis plasmáticos do E2 foram observados na espécie *Prochilodus argenteus*, capturados no trecho do Rio São Francisco, um próximo e outro mais distante da barragem, caracterizados pela baixa concentração de O₂D (<2ppm) e níveis mais elevados(>6ppm), respectivamente.

6.3 Correlação do pH e pluviosidade com a concentração plasmática do E2

Foi observado neste estudo uma correlação positiva entre o pH e a concentração plasmática do E2, em que as concentrações mais elevadas foram registradas em maio/14 e setembro/14. Para Lehninger (2006) a manutenção do sítio ativo na sua configuração ativa é dependente de uma faixa de pH específico, que neste estudo pode ter surgido no outono-inverno.

Entretanto a tendência de redução e estabilização dos níveis plasmáticos do E2 em patamares baixos, de outubro a fevereiro, coincidiu com o período em que foi registrado a redução gradual do pH da água devido ao aumento da pluviosidade com a provável modificação no poder tampão da água como relatado por Mercadante et al. (2005).

De acordo com Fromm (1980), em condições de baixo pH há o influxo de íons H⁺ pelas brânquias que pode promover alterações no equilíbrio ácido-básico sanguíneo, podendo modificar o estado iônico das cadeias laterais dos aminoácidos presentes no sítio ativo das enzimas, mudando a configuração ativa dessa enzima e o impedindo a formação do complexo enzimático (enzima-substrato).

A falta de correlação da concentração plasmática do E2 com a transparência e a Condutividade da água, pode estar relacionada a baixa amplitude na variação dos dados dessas variáveis ambientais no período avaliado, que pode estar

diretamente relacionado aos baixos índices de precipitação pluviométrica e, que de acordo com a Estação Meteorológica da USP/Pirassununga foram os mais baixos em relação a série histórica dos últimos 10 anos, para o mesmo período do ano.

A segmentação da discussão em tópicos se deve ao fato dos experimentos na área de fisiologia ambiental serem geralmente conduzidos sob condições laboratoriais, em que as variáveis ambientais testadas são controladas, no entanto a metodologia utilizada neste trabalho propiciou o acompanhamento das flutuações naturais do fotoperíodo, temperatura, O₂D, pH e pluviosidade, a que os exemplares de *B. amazonicus* foram expostos. Essa abordagem permitiu a visualização das ações simultâneas das variáveis ambientais avaliadas, com a criação de condições favoráveis ou não, a observação da concentração plasmática do E2.

Somando-se à essas variações há também de acordo com Baird (2002) e Kubtiza (2003) a interação entre variáveis analisadas, uma vez que a diminuição da temperatura da água promove o aumento tanto da solubilidade do oxigênio como do pH da água, devido à menor dissociação das moléculas de água em íons H⁺ e OH⁻, situação que se inverte em condições de temperaturas elevadas. Diariamente o funcionamento do sistema tampão, gera durante o dia, o aumento da concentração do O₂D e elevação do pH, seguido da redução da concentração do CO₂ mobilizado para o processo fotossintético; e durante a noite ocorre o aumento da concentração de CO₂, que se dissocia formando íons bicarbonato e H⁺, baixando o pH e reduzindo de forma gradual a concentração do O₂D por conta da respiração (KUBTIZA, 2003).

Há também o relato de Mercante et al.(2005) sobre a diminuição do pH em função da redução na concentração de íons Ca²⁺ ocasionado pelo aumento da pluviosidade, comprometendo o funcionamento do sistema tampão, uma vez que esses íons atuam na imobilização do excesso de CO₃⁼, atenuando as flutuações de pH segundo Kubtiza (1998, 2003). Da mesma forma que a elevação do pH, potencializa o aparecimento da amônia não ionizada (NH₃) tóxica aos peixes, enquanto que num cenário de pH reduzido há o aumento na proporção das formas tóxicas do nitrito (HNO₂) e gás sulfídrico (H₂S)(KUBTIZA, 2003).

Foi diante dessa dinâmica complexa entre as variáveis ambientais e suas ações simultâneas sob as unidades experimentais, que buscou-se determinar a correlação entre as variáveis ambientais analisadas e a concentração plasmática do

E2, assim como o perfil endócrino desse esteroide em fêmeas da espécie *Brycon amazonicus* mantidas num sistema de criação em cativeiro, do tipo semi-intensivo.

7 CONCLUSÃO

Levando-se em conta o que foi observado neste estudo, concluímos que frente às condições ambientais observadas durante o período experimental:

- as concentrações plasmáticas do esteroide sexual E2 em fêmeas de *B. amazonicus* mantidas em cativeiro, num sistema de produção semi-intensivo, estão correlacionadas de forma direta e simultânea com as variáveis ambientais de pH e oxigênio dissolvido da água e de forma inversa às variáveis fotoperíodo, temperatura da água e precipitação pluviométrica, não havendo associação com a transparência e condutividade da água;
- o perfil endócrino da concentração plasmática do E2 em fêmeas de *Brycon amazonicus* ficou caracterizado por concentrações elevadas nas estações climáticas de outono-inverno (maio/14 e setembro/14), redução e estabilização em baixas concentrações a partir da primavera-verão (outubro/2014 - fevereiro/15), com a retomada na elevação da concentração desse esteroide no outono (março/15-abril/15) seguinte.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 174–180, 2013.
- ANDERSON, K. et al. Effect of thermal challenge on plasma gonadotropin levels and ovarian steroidogenesis in female maiden and repeat spawning Tasmanian Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 334-337, p. 205–212, 2012.
- ARANTES, F. P. et al. Profiles of sex steroids , fecundity , and spawning of the curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River , downstream from the Três Marias Dam , Southeastern Brazil. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 118, p. 330–336, 2010.
- BAIRD, C. A química das águas naturais. In: BAIRD, C. (Ed.). **Química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 441–445.
- BARBIERI, G., SALLES, F. A., CESTAROLLI, M. A. Influência de fatores abióticos na reprodução do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimatã *Prochilodus lineatus* do Rio Mogi Guaçu (Cachoeira de Emas, Pirassunungaa/SP). **Acta Limnológica Brasiliensia**, São Carlos, v. 12, p. 85–91, 2000.
- BAYARRI, M. J. et al. Effect of photoperiod manipulation on daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 28, n. 1-4, p. 37–38, 2003.
- BJÖRNSSON, B. T. et al. The interrelation between photoperiod, growth hormone, and sexual maturation of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*). **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 93, n. 1, p. 70–81, 1994.
- BON, E. et al. Effects of Accelerated Photoperiod Regimes on the Reproductive Cycle of the Female Rainbow Trout: I—Seasonal Variations of Plasma Lipids Correlated with Vitellogenesis. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 118, n. 1, p. 143–154, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Brasília, 2011.
- BROMAGE, N. et al. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 100, n. 1-3, p. 141–166, 1992.
- BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, p. 63–68, 2001.

BROMAGE, N. R. et al. The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 43, n. 1-3, p. 213–223, 1984.

BROMAGE, N. R.; WHITEHEAD, C.; BRETON, B. Relationships between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 beta, and vitellogenin in the control of ovarian development in the rainbow trout. II. The effects of alterations in environmental photoperiod. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 47, n. 3, p. 366–376, 1982a.

BROMAGE, N. R.; WHITEHEAD, C.; BRETON, B. Relationships between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 β , and vitellogenin in the control of ovarian development in the rainbow trout. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 47, n. 3, p. 366–376, jul. 1982b.

BROWN-PETERSON, N. J. et al. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. **Marine and Coastal Fisheries**, Bethesda, v. 3, n. 1, p. 52–70, jan. 2011.

CABRITA, E.; ROBLES, V.; HERRÁEZ, P. **Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species**. Boca Raton: CRC, 2008.

CORREIA, T.G.; NARCIZO, A.M.; BIANCHINI, A.; MOREIRA, R.G. Aluminium as an endocrine disruptor in female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology and Pharmacology**, Miami, v.151, p.461-466, 2010

DAVIE, A. et al. Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 270, n. 1-4, p. 379–389, 2007.

DAVIE, A.; PORTER, M. J. R.; BROMAGE, N. R. Photoperiod manipulation of maturation and growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 28, n. 1-4, p. 399–401, 2003.

DAVIES, B.; BROMAGE, N.; SWANSON, P. The Brain – Pituitary – Gonadal Axis of Female Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*: Effects of Photoperiod Manipulation. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 115, p. 155–166, 1999.

DELARIVA, R. L.; AGOSTINHO, A. A. Introdução de espécies : uma síntese comentada. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 2, p. 255–262, 1999.

DEVLIN, R. H.; 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.

DUSTON, J.; BROMAGE, N. Photoperiodic mechanism and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 2, n. 1-4, p. 35–51, 1986.

ELISIO, M.; CHALDE, T.; MIRANDA, L. A. Effects of short periods of warm water fluctuations on reproductive endocrine axis of the pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) spawning. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, Philadelphia, v. 163, n. 1, p. 47–55, 2012.

ENDAL, H. P. et al. Effects of continuous additional light on growth and sexual maturation in Atlantic salmon, *Salmo salar*, reared in sea cages. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 191, p. 337–349, 2000.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FALCÓN, J. et al. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 81–88, 2007.

FALCÓN, J. et al. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 165, n. 3, p. 469–482, 2010.

FILHO, E. Z.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, 2007. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/367.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2016.

FONTES, L. P. C. et al. Influência da chuva sobre os parâmetros físico-químicos na água da lagoa do IFMT – BELA VISTA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 3, 2012, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2012.

FROMM, P. O. A review of some physiological and toxicological responses of freshwater fish to acid stress. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, v. 5, n. 1, p. 79–93, 1980.

GARCÍA-LÓPEZ, A. et al. Disruption of gonadal maturation in cultured Senegalese sole *Solea senegalensis* Kaup by continuous light and/or constant temperature regimes. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n. 2, p. 789–798, 2006.

GOMES, L. de C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. de C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2010. p. 149–174.

HAINFELLNER, P. et al. Gonadal steroids levels and vitellogenesis in the formation of oocytes in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Teleostei: Characiformes). **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 601–612, 2012.

HALA, D. et al. Constraints-based stoichiometric analysis of hypoxic stress on steroidogenesis in fathead minnows, *Pimephales promelas*. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 215, n. 10, p. 1753–1765, 2012.

HALLDORSSON, O.; HAUX, C.; BJORNSSON, T. Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L.: plasma thyroid hormone and calcium levels. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 166, n. 1, p. 117–140, 1998.

HANSEN, T. et al. Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 203, n. 1-2, p. 51–67, 2001.

HONJI, R. M. **Caracterização endócrina durante o ciclo reprodutivo da tabarana *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae), em três ambientes distintos: natural, impactado e cativeiro**. 2007. 228 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41135/tde-23102007-174509/pt-br.php>>. Acesso em: 12 fev. 2016.

HOOVER, E. E. Experimental modification of the sexual cycle in trout by control of light. **Science**, Washington, v. 86, n. 2236, p. 425–426, 1937.

IBL, G. **Instruções de uso Kit 17B-Estradiol ELISA (RE52041)**. [S. l.: s. n.], 2010.

IKUAT, K. et al. **Effects of acidification on fish reproduction**. 1976. Disponível em: <<http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/japan/aquaculture/proceedings/report28/ikuta.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2016.

ISEKI, K. K.; NEGRÃO, J. A.; CASTRUCCI, A. M. DE L. Variações sazonais nos níveis plasmáticos dos estróides sexuais (17 Beta-Estradiol e Testosterona) durante o ciclo reprodutivo de (*Piaractus mesopotamicus*). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, [S.l.], v. 12, p. 151–162, 2008.

IZEL, A. C. U.; MELO, A. S. **Criação de matrinxã (*Brycon cephalus*) em barragens no Amazonas**. Manaus: Embrapa, 2003. 2 p. (Comunicado técnico, 20). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAA-2009-09/12534/1/Com-Tec-20.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2016.

KAGAWA, H.; YOUNG, G.; NAGAHAMA, Y. Estradiol-17 beta production in isolated amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles and its stimulation by gonadotropins. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 47, n. 3, p. 361–365, 1982.

KING, H. R. et al. Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 63, n. 1, p. 153–167, 2003.

KING, H. R.; PANKHURST, N. W.; WATTS, M. Reproductive sensitivity to elevated water temperatures in female Atlantic salmon is heightened at certain stages of vitellogenesis. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 70, n. 1, p. 190–205, 2007.

KUBTIZA, F. Qualidade da água na produção de peixes - Parte I. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 45, 1998, p. 36–41, 1998.

KUBTIZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiaí: F. Kubtiza, 2003. 228 p.

LANDRY, C. A. et al. Long term hypoxia suppresses reproductive capacity in the estuarine fish, *Fundulus grandis*. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, Philadelphia, v. 148, n. 2, p. 317–323, 2007.

LEHNINGER, A. L. Enzimas. In: LODI, W. R. N. (Ed.). **Lehninger princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. p. 190–230.

LU, X. et al. Hypoxia disrupts gene modulation along the brain-pituitary-gonad (BPG)-liver axis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Maryland Heights, v. 102, n. 1, p. 70–78, 2014.

MAITRA, S. K. et al. Melatonin: A potent candidate in the regulation of fish oocyte growth and maturation. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 181, p. 215–222, 2013.

MARTINOVIC, D. et al. Hypoxia alters gene expression in the gonads of zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 95, n. 4, p. 258–272, 2009.

MELO, A. R.; STIPP, N. A. . A Piscicultura em Cativeiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. **Geografia**, Londrina, v. 10, n. 2, p. 175–193, 2001.

MERCANTE, C. T. J. et al. Qualidade da água em pesque-pague da região Metropolitana de São Paulo (Brasil): Avaliação através de fatores abióticos (período seco e chuvoso). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 1–7, 2005.

MIDDAUGH, D. P. et al. **Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 254 p.

MORAN, L. A. et al. Mecanismos enzimáticos. In: **Bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2013. p. 164–196.

MOREIRA, R. G. **Esteróides gonadais, proteína, lipídios plasmáticos e hepáticos em relação ao ciclo reprodutivo do dourado *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1840)(Pisces Characiformes: Characidae)** de ambiente natural. 1999. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 165, n. 3, p. 516–34, 1 fev. 2010.

MYLONAS, C.; ZOHAR, Y. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Dordrecht, p. 463–491, 2000.

NAGAHAMA, Y. et al. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 11, n. 1-6, p. 3–14, jul. 1993.

NAGAHAMA, Y. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. **International Journal of Developmental Biology**, Bilbao, v. 229, n. 1994, p. 217–229, 1994.

NAGAHAMA, Y.; YAMASHITA, M. Regulation of oocyte maturation in fish. **Development, Growth & Differentiation**, Richmond, v. 50, p. S195–S219, 2008.

NAIME, R.; FAGUNDES, R. S. Controle da qualidade da água do Arroio Portão Portão, RS. **Pesquisas em Geociências**, Porto Alegre, v. 32, n. 1, p. 27–35, 2005.

NORBERG, B. et al. Effects of photoperiod on sexual maturation and somatic growth in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 129, n. 2-3, p. 357–365, 2001.

NORBERG, B. et al. Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 229, n. 1-4, p. 451–467, 2004.

OGAWA, K. et al. Effects of acid stress on reproductive functions in immature carp, *Cyprinus carpio*. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 130, n. 1-4, p. 887–892, 2001.

PANKHURST, N. W.; KING, H. R. Temperature and salmonid reproduction: Implications for aquaculture. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 76, p. 69–85, 2010.

PANKHURST, N. W.; MUNDAY, P. L. Effects of climate change on fish reproduction and early life history stages. **Marine and Freshwater Research**, Clayton, p. 1015–1026, 2011.

PANKHURST, N. W.; PORTER, M. J. R. Cold and dark or warm and light: Variations on the theme of environmental control of reproduction. **Fish Physiology and Biochemistry**, Philadelphia, v. 28, n. 1-4, p. 385–389, 2003.

PETRINO, T. R.; LIN, Y. W. P.; WALLACE, R. A. Steroidogenesis in *Fundulus heteroclitus*. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 76, n. 2, p. 230–240, 1989.

PIZANGO PAIMA, E. G.; PEREIRA FILHO, M.; OLIVEIRA PEREIRA, M. I. DE. Composição corporal e alimentar do matrinxã, *Brycon cephalus*, na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, n. 3, p. 509–520, 2001.

PORTER, M. J. et al. The use of cage lighting to reduce plasma melatonin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effects on the inhibition of grilising. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 176, n. 3-4, p. 237–244, 1999.

PRAT, F. et al. Effects of constant short and long photoperiod regimes on the spawning performance and sex steroid levels of female and male sea bass. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 54, p. 125–137, 1999.

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

RAFF, H.; BRUDER, E. D. Steroidogenesis in human aldosterone-secreting adenomas and adrenal hyperplasias: effects of hypoxia in vitro. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v. 290, n. 1, p. E199–E203, 2006.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Ed. PUCRS, 2004. 729 p.

RIBEIRO, C.; GUIMARÃES, R. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, São Paulo, v. 8, p. 58–61, 2012. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?q=Fatores+ambientais+e+reprodu%C3%A7%C3%A3o+dos+peixes&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=qchBVo_eF4GcwgSc3p7ABQ>. Acesso em: 15 fev. 2015.

RODRÍGUEZ, L. et al. Changes in plasma levels of reproductive hormones during first sexual maturation in European male sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under artificial day lengths. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 202, n. 3-4, p. 235–248, 2001.

ROMAGOSA, E. et al. Reproductive cycle of male matrinxã, *Brycon cephalus*. **Brazilian Journal Morphology Science**, Campinas, v. 17, n. 17, p. 101–105, 2000.

ROMAGOSA, E. et al. Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã , *Brycon cephalus* , induzidas a reprodução. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 139–147, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpcesca/27%5B2%5D-art_03.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2015.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 66, p. 37–40, 2001. Disponível em: <<http://www.ib.unicamp.br/comissoes/sites/www.ib.unicamp.br.site.comissoes/files/teste%20de%20anestésicos%20em%20peixes.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

RUFFINO, M. L.; ROUBACH, R. A pesca e aquicultura na Amazônia brasileira. In: ZAMUDIO, H. B. et al. (Ed.). **Amazonía y agua: desarrollo sostenible en el siglo XXI**. Espanã: Unesco Etxea, 2010. p. 249–257.

SCOTT, A.; SUMPTER, J.; HARDIMAN, P. Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 134, p. 128–134, 1983.

SETHILKUMARAN, B.; YOSHIKUNI, M.; NAGAHAMA, Y. A shift in steroidogenesis occurring in ovarian follicles prior to oocyte maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Shannon, v. 215, p. 11–18, 2004.

SHIMIZU, A. Effect of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in a reared strain of the mummichog (*Fundulus heteroclitus*) during different phases of its annual reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 131, n. 3, p. 310–324, 2003.

SUMPTER, J. Reproductive seasonality in teleosts: Environmental influences. In: MUNRO, A. D.; SCOTT, A.; LAM, T. J. (Ed.). **General concepts of seasonal reproduction**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 13–28.

TARANGER, G. L. et al. Mechanisms underlying photoperiodic effects on age at sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 44, p. 47–60, 1999.

TENA-SEMPERE, M. et al. Comparative insights of the kisspeptin/kisspeptin receptor system: Lessons from non-mammalian vertebrates. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 175, n. 2, p. 234–243, 2012.

THOMAS, P. et al. Reproductive endocrine dysfunction in Atlantic croaker exposed to hypoxia. **Marine Environmental Research**, Clayton, v. 62, n. SUPPL. 1, p. 249–252, 2006.

THOMAS, P.; RAHMAN, M. S. Extensive reproductive disruption, ovarian masculinization and aromatase suppression in Atlantic croaker in the northern Gulf of Mexico hypoxic zone. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, New York, v. 279, n. 1726, p. 28–38, 2012.

VAN DER KRAAK, G.; PANKHURST, N. W. Temperature effects on the reproductive performance of fish. In: In: WOOD, C. M.; MCDONALD, D. G. (Eds.). **Global warming implications for freshwater and marine fish**. Cambridge: University Press, 1996. p. 159–176.

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

VERONEZ, B. P. **Análise da influência da precipitação pluviométrica e do uso do solo sobre a qualidade da água em microbacias hidrográficas no nordeste paraense, Amazônia oriental**. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 2011.

WATTS, M.; PANKHURST, N. W.; KING, H. R. Maintenance of Atlantic salmon (*Salmo salar*) at elevated temperature inhibits cytochrome P450 aromatase activity in isolated ovarian follicles. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrechth, v. 135, n. 3, p. 381–390, 2004a.

WATTS, M.; PANKHURST, N. W.; KING, H. R. Maintenance of Atlantic salmon (*Salmo salar*) at elevated temperature inhibits cytochrome P450 aromatase activity in isolated ovarian follicles. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 135, n. 3, p. 381–390, 2004b.

WHITEHEAD, C. et al. The effects of alterations in photoperiod on ovarian development and spawning time in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**, Les Ulis, v. 18, n. 4, p. 1035–1043, 1978.

WU, R. S. S. et al. Aquatic hypoxia is an endocrine disruptor and impairs fish reproduction. **Environmental Science and Technology**, Dordrecht, v. 37, n. 6, p. 1137–1141, 2003.

WU, R. S. S. Effects of hypoxia on fish reproduction and development. **Fish Physiology**, Maryland Heights, v. 27, p. 79-141, 2009.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 129, n. 1-4, p. 49–73, jan. 1995.

YARON, Z.; LEVAVI-SIVAN, B. Endocrine Regulation of Fish Reproduction. In: **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**. London: Elsevier, 2011. v. 2, p. 1500–1508.

YOUNG, G.; KAGAWA, H.; NAGAHAMA, Y. Evidence for a decrease in aromatase activity in the ovarian granulosa cells of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) associated with final oocyte maturation. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 29, n. 2, p. 310–315, 1983.

YOUNG, G.; UEDA, H.; NAGAHAMA, Y. Estradiol-17 beta and 17 alpha, 20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one production by isolated ovarian follicles of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) in response to mammalian pituitary and placental hormones and salmon gonadotropin. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 52, n. 2, p. 329–335, 1983.

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, p. 367–373, 2007.

ZANUY, S. et al. Genetic , hormonal and environmental approaches for the control of reproduction in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 202, p. 187–203, 2001.

ZOHAR, Y. et al. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, Dordrecht, v. 165, n. 3, p. 438–55, 2010.

ZOHAR, Y.; MYLONAS, C. C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1-4, p. 99–136, 2001.