

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS
TRÓPICOS

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO pH NA
DETERMINAÇÃO SEXUAL DO TAMBAQUI *Colossoma macropomum*
(CUVIER, 1818)

IRANÍ DA SILVA DE MORAIS

MANAUS

2016

IRANÍ DA SILVA DE MORAIS

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO pH NA
DETERMINAÇÃO SEXUAL DO TAMBAQUI *Colossoma macropomum*
(CUVIER, 1818)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, área de concentração Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais.

Orientadora: Dr^a. Fernanda Loureiro de Almeida O'Sullivan

MANAUS

2016

Ficha Catalográfica

M827a Morais, Iraní da Silva de
Avaliação da influência da temperatura e do pH na determinação sexual do tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816) / Iraní da Silva de Morais. 2016
82 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Fernanda Loureiro de Almeida O'Sullivan
Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Determinação sexual. 2. Sexagem. 3. Tambaqui. 4. Aquicultura. 5. Piscicultura. I. O'Sullivan, Fernanda Loureiro de Almeida II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos
PPGCIPT



Ata da Defesa Pública de Dissertação de Mestrado da senhora **Iraní da Silva de Morais**, aluna do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, na Área de Concentração em Uso sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais, realizada no dia 12 de setembro de 2016.

Aos doze dias do mês de setembro do ano de dois mil e dezesseis, às oito horas e trinta minutos, na sala de seminário, situada no terceiro andar do prédio da Pós-Graduação FCA-ICB; setor Sul (Minicampus), da Universidade Federal do Amazonas, realizou-se a Defesa Pública de Dissertação de Mestrado, intitulada "AVALIAÇÃO DA INFLUENCIA DA TEMPERATURA E DO PH NA DETERMINAÇÃO SEXUAL DO TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818)" da aluna **IRANI DA SILVA DE MORAIS**, em conformidade com o Art. 50 do Regimento Interno do PPG-CIPET-FCA e com Regimento Geral da Pós-Graduação da Universidade Federal do Amazonas, Resolução nº 033/2014, Artigo 7 e 13 § 3, para a obtenção do título de **MESTRE EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS**, área de concentração em **USO SUSTENTÁVEL DE RECURSOS PESQUEIROS TROPICAIS**. A Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Paulo Henrique Rocha Aride (presidente - IFAM), Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues (UNINILTONLINS) e Pesq. Dra. Sidnéia Aparecida Amadio (INPA). O Presidente da Banca Examinadora deu início à sessão, convidando os membros e a mestranda a tomarem seus lugares. Em seguida, o Senhor Presidente informou sobre o procedimento do exame. A palavra foi facultada a mestranda para apresentar uma síntese do seu estudo e responder às perguntas formuladas pelos membros da Banca Examinadora. Após a apresentação e arguição, os membros da Banca Examinadora expressaram o parecer de APROVAÇÃO.
A sessão foi encerrada e Eu, Paulo Henrique Rocha Aride, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada pelos membros da Banca Examinadora, em Manaus (AM), 12 de setembro de 2016.

Banca Examinadora:

Paulo Henrique Rocha Aride, DSC (IFAM)
Presidente

Ricardo Vieira Rodrigues, DSC. (UNINILTON LINS)
Membro

Fernanda Loureiro de Almeida, DSC. (EMBRAPA)
Membro

AGRADECIMENTOS

Todo trabalho, sem dúvida, necessita da colaboração de muitas pessoas e de muitos setores, mas considero o que veio de cada um de vocês como um presente e como gesto de incentivo ao meu crescimento profissional que recebi com carinho e espero retribuir a quem precisar um dia.

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida, pela saúde e a força que possibilitam buscar novos desafios.

À Embrapa pela oportunidade de desenvolver o projeto e disposição da logística da estrutura de campo e dos laboratórios.

À equipe do setor de piscicultura da Embrapa - pesquisadores e analista pelo apoio no decorrer desses dois anos:

- À Dr^a Fernanda Almeida pelo voto de confiança em aceitar a orientação e os desafios que envolviam o trabalho,

- Aos pesquisadores: Dr^a Edsandra pelo incentivo com palavras certas no momento certo e empréstimo de materiais, ao Dr^o Jony pela ajuda prática no experimento principalmente nos finais de semana e a Dr^a Cheila pelo apoio,

- A analista Claudia Majolo que colaborou com incentivo e de forma prática,

- Aos alunos do Aqualab – Embrapa: Charles, Daiana, Valéria, Romário, Jailson, Erix, Júlio, Driele, Mayene, Kátia, Franmir, Patricia e Ana, além do apoio nas coletas e análises também as boas risadas e companheirismo de vocês,

- A Joyce, Vanessa e Claudia Afras pela amizade, paciência e as palavras de incentivo e consolo,

- Aos assistentes do setor de piscicultura, seu Edson e seu Marcondes pelo apoio aos experimentos e coletas.

Aos técnicos Jeferson e Sérgio pela grandeza de vocês, sempre disponíveis em contribuir com seu conhecimento e experiência.

Ao Dr^o Celso Azevedo, seu incentivo foi fundamental, a Dr^a Regina Quisen, ao Dr^o Ronaldo e a bibliotecária Augusta, meus agradecimentos.

A equipe da Sepror de Balbina, em especial ao Ronam e seu Leôncio que cederam as larvas de tambaqui e deram dicas valiosas.

Aos meus sobrinhos, Walesca, Deise, Isabel, Gustavo e Valentina que me descontraíam e por me acompanharem nos trabalhos de final de semana.

Aos meus irmãos Ivo, Ivani e Irene por entenderem minha ausência e pelas ajudas em final de semana.

Ao Dyjaylson pela compreensão, seu apoio e carinho foi um presente.

A minha mãe Deise e ao meu pai Francisco (*"in memoriam"*), que sempre ofereceram seu apoio emocional e físico de forma incondicional com o respeito e a propriedade de quem a idade foi a melhor escola.

Cada palavra e cada de gesto de cada um vocês foram fundamentais para me dar forças e coragem para continuar.

Muito obrigada!

*Dedico este trabalho ao meu pai Francisco (“in memorian”), homem do campo que com sua simplicidade ensinou os valores morais adquiridos com a sabedoria dos anos e também, especialmente à minha mãe Deise que é meu apoio nos momentos mais difíceis, por ser sempre presente e compreensiva.
Com amor, Obrigado por tudo!*

Peixe

Rede na proa,
Remo no rio,
Busca o remanso
Lento casco,
Leva o homem
Que não enjoa do seu balanço.
Rede no rio, remo no casco,
Leve, flutua
Na esperança,
Lembrança de dias
Melhores que passaram.
Rede puxada,
Olhar no vazio,
Pneu, lata, garrafa,
Nenhum peixe na rede.
Fome,
Futuro sombrio,
Rede no casco,
Casco vazio,
Lágrimas.
Lamento do homem
Que viu a poluição
Matar o seu rio.

Jean Kleber

Resumo

A aquicultura é uma das atividades agropecuárias que mais cresce no Brasil e no mundo. Na Amazônia, possui grande potencial devido à importância natural dos peixes na alimentação das populações humanas locais, que sempre os tiveram em abundância e variedade. Nas últimas décadas, o crescimento dos centros urbanos, principalmente Manaus, e o aumento da pressão de captura sobre os estoques naturais foram fatores responsáveis pela diminuição da fartura de peixes na região. Dessa forma, a piscicultura vem crescendo para suprir essa demanda e com isso gerando emprego e renda para as comunidades rurais. Como consequência do cultivo, surge a necessidade de melhoria e rapidez no processo de criação de peixes, usando técnicas que viabilizem o cultivo em menor tempo e em maior eficiência (produção por área de cultivo). Com a finalidade de fornecer conhecimentos básicos que possam auxiliar o desenvolvimento de novas tecnologias para a piscicultura regional e nacional, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura e pH na determinação de machos e fêmeas de tambaqui. Para isso, os referidos fatores físicos foram controlados em laboratório e foram realizados dois experimentos independentes, um para pH (6,5, 7,5 – controle e 8,5) e outro para temperatura (26, 28 – controle e 30 °C), com dois ensaios em cada um. As larvas de tambaqui (12 dpe) foram mantidas nos tratamentos até atingirem 4 cm de comprimento padrão, quando foram transferidas para tanques rede até alcançarem o tamanho de sexagem. Com base em avaliações histológicas das gônadas, o tratamento de pH ácido produziu mais machos que o tratamento controle (pH 7,5). A temperatura de 26 °C mostrou-se inviável experimentalmente pela alta mortalidade dos animais. A temperatura mais elevada apresentou uma tendência em aumentar a proporção de machos no lote. O resultado do trabalho sugere que o pH ácido (6,5) pode influenciar na proporção de machos e fêmeas em tambaqui, com maior número de machos. Os dados certamente poderão contribuir para o avanço do conhecimento sobre a biologia do desenvolvimento do tambaqui, servindo de apoio às pesquisas aplicadas, como em estudos sobre efeitos do aquecimento global, evolutivos, ecologia da espécie e biotecnologia.

Palavras chave: determinação sexual; sexagem; tambaqui; aquicultura; piscicultura

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Manejo para o tabaqui nas fases de cultivo.....23

Capítulo 2

Tabela 1. Teleósteos com sistema de determinação sexual conhecido.....38

Capítulo 3

Tabela 1. Ensaio com o número de animais por tratamento.....61

Tabela 2. Parâmetros da qualidade da água, em média e \pm desvio padrão durante o experimento com pH (Amônia mg/L, Dureza e Alcalinidade mg/L de CaCO₃, Temperatura em °C e Oxigênio mg/L).....68

Tabela 3. Parâmetros da qualidade da água, em média e \pm desvio padrão durante o experimento com temperatura (Amônia mg/L, Dureza e Alcalinidade mg/L de CaCO₃, Temperatura em °C e Oxigênio mg/L).....68

Tabela 4. Percentual de machos e fêmeas por tratamento de temperatura em cada ensaio.....71

Tabela 5. Percentual de machos e fêmeas por tratamento de pH em cada ensaio.....72

SUMÁRIO

Capítulo 1. Biologia, habitat e cultivo do tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	12
Resumo	13
Abstract	14
1. Introdução.....	15
2. Metodologia.....	15
3. Descrição da espécie	16
3.1 Hábito alimentar.....	17
3.2 Biologia da espécie	18
3.2.1 Reprodução e larvicultura.....	18
3.2.2 Clima e água	21
3.2.3 Cultivo	22
3.2.4 Pesca	25
3.2.4 Pesca	25
4. Conclusão	25
5. Agradecimento	26
6. Referências	26
Capítulo 2. Determinação sexual e métodos de sexagem em teleósteos	35
1 Introdução	36
2 Tipos de determinação sexual.....	37
2.1 Genética.....	37
2.1.1 Cromossômica.....	40
2.1.2 Poligênica.....	40
2.2 Ambiental	41
2.2.1 Temperatura.....	41
2.2.2 Ph.....	43
3 Métodos de sexagem em peixes.....	43
3.1 Amplificação de DNA.....	44
3.1.1 RAPD	44
3.1.2 AFLP	45
3.1.3 Histologia.....	46
3.1.4 Vitelogenina.....	46
3.1.5 Dimorfismo sexual.....	47
3.1.5.1 Exemplos de espécies com dimorfismo	48
4 Conclusão	49
5 Referências	49
Capitulo 3. Avaliação da influência da temperatura e do pH na determinação sexual do tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	58
Resumo.....	59

Abstract.....	60
1 Introdução	61
2 Material e Métodos.....	64
2.1 Animais e condições experimentais	64
3 Tratamentos Experimentais.....	65
3.1 Experimento 1	65
3.2 Experimento 2	66
3.3 Coleta e amostragem	66
3.4 Sexagem por processamento histológico.....	66
3.5 Análise estatística.....	67
4 Resultados	67
4.1 Condições Experimentais.....	67
4.2 Sexagem	68
4.3 Efeito dos tratamentos na proporção de machos e fêmeas	71
5. Discussão.....	72
6. Referências	76
Considerações finais	82
Referências.....	83

Capítulo 1.

Biologia, habitat e cultivo do tambaqui *Colossoma macropomum*

Biologia, habitat e cultivo do tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER,
1816)

Biology, habitat and farming of tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER,
1816)

Iraní da Silva de Morais ¹ e Fernanda Loureiro de Almeida O'Sullivan ²

Submetido XX/XX/20XX – Aceito XX/XX/20XX – Publicado on-line XX/XX/20XX

¹ Aluna de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas. Av. Gen. Rodrigo Otávio, 3000, CEP: 69077-000, Coroado II, Manaus, Amapá – Brasil. irani1morais@hotmail.com.

² Pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária da Amazônia Ocidental, CPAA. Rodovia AM 010 Km 29- Manaus, AM - Brasil - CEP 69000-000 - Caixa-postal: 319. fernanda.almeida@embrapa.br.

Resumo

O tambaqui *Colossoma macropomum*, caracídeo da bacia Amazônica, é a principal espécie nativa produzida na piscicultura brasileira. A alta demanda pelo tambaqui e o declínio das populações naturais impulsionaram a criação comercial da espécie, tanto em quantidade de fazendas produtoras quanto na intensificação da produção. Como consequência, o número de trabalhos científicos e estudos sobre o tambaqui aumentaram demasiadamente nos últimos anos, com a finalidade de preservar os estoques naturais e/ou aprimorar sua produção em cativeiro. Com o objetivo de reunir em um único documento os conhecimentos disponíveis sobre os aspectos fisiológicos que envolvem sua reprodução e as características do cultivo do tambaqui, a presente revisão foi produzida baseada em publicações científicas de 1992 até início de 2016. Assim, o trabalho reúne um grande número de dados sobre a espécie, representando uma valiosa fonte de informações básicas e aplicadas sobre o principal peixe nativo brasileiro.

.Palavras-Chave: peixe; bacia Amazônica; piscicultura; caracídeo

Abstract

Tambaqui *Colossoma macropomum*, characid from the Amazon basin is the main native species produced in Brazilian fish farming. The high demand for tambaqui and the decline of the natural stocks boosted the commercial breeding of the species, both in number of farms and in the intensification of the production. Therefore, the number of scientific papers about tambaqui increased in the recent years, aiming to preserve natural stocks and/or to improve its farming. In order to compile the knowledge available on the tambaqui physiology and farming, this study was produced based on scientific publications from 1992 to early 2016. Thus, the work brings together a large number of data on the species, representing a valuable source of basic and applied information about the main Brazilian native fish.

Key-words: fish; amazon basin; aquaculture; characid

1. Introdução

A América do Sul provavelmente abriga a mais diversificada fauna de peixes de água doce do mundo, com aproximadamente 8000 espécies na região Neotropical (REIS, 2013). Somente na Bacia Amazônica ocorre 2411 espécies de peixes, sendo 111 gêneros (21%) e 1089 espécies (45%) endêmicas da bacia (REIS et al., 2016). Apesar da grande diversidade, apenas uma parcela pequena destas espécies é explorada na pesca e aquicultura (SANTOS et al., 2006). E dentre as espécies com valor comercial encontra-se o tambaqui *Colossoma macropomum* que é apreciado na Região Amazônica e por isso muito explorado pela pesca na Amazônia desde o século XIX (MENEZES et al., 2008). Esse peixe tem grande destaque na piscicultura continental em todo o Brasil, e é a principal espécie nativa cultivada no país (LOBO et al., 2015). Segundo dados do IBGE, a produção total de peixes de água doce no Brasil foi de aproximadamente 400 mil toneladas em 2013, e o tambaqui foi a segunda espécie mais produzida nacionalmente com uma produção de 139,21 mil toneladas, ou seja 29,3% do total nacional (IBGE 2014). Na Região Norte foi produzido 106 mil toneladas de tambaqui, das quais 9,8 mil foram produzidas somente no Estado do Amazonas (IBGE, 2013; IBGE, 2014). É um peixe rústico e de grande porte, conhecido como maior caracideo da Amazônia, sua carne é saborosa possuindo baixo acúmulo de gordura e por isso importante também para a pesca comercial na Amazônia (PENNA et al., 2005; MENEZES, 2010; GARCEZ e FREITAS, 2010; GOMES et al., 2010). Em sistema intensivo, a espécie apresenta crescimento rápido, alta produtividade e ótima adaptação aos sistemas de cultivo tradicionais (ARAUJO-LIMA e GOULDING, 1998; VAL et al., 2000). Diante do crescente número de estudos sobre essa importante espécie nativa Amazônica, a presente revisão tem como objetivo apresentar um compilado do conhecimento atual sobre sua biologia e informações sobre o seu cultivo.

2. Metodologia

Para a elaboração deste trabalho, foi realizado um levantamento bibliográfico em referências literárias indexadas, através de consulta nos principais portais de indexação de revistas científicas: Google Acadêmico (www.scholar.google.com.br),

SciELO (www.scielo.org), e no conjunto de base de dados do portal de periódicos CAPES (www.periodicos.capes.gov.br). As informações foram coletadas de Janeiro a junho de 2016. Para consulta, utilizamos os termos “tambaqui”, “*Colossoma macropomum*”, “engorda de tambaqui” e “reprodução de tambaqui” em português, inglês e espanhol, como palavras chaves nas pesquisas, e consideramos os artigos publicados no período entre 1992 à início de 2016. Para simplificar a leitura o artigo foi dividido em tópicos por temas principais como introdução, a descrição da espécie, biologia e hábito alimentar, além dos aspectos da reprodução e larvicultura. Clima, água e cultivo da espécie.

3. Descrição da espécie

O tambaqui *Colossoma macropomum* foi descrito por George Cuvier em 1816. A espécie, nativa dos rios Amazonas, Orinoco e seus afluentes, é pertencente à classe Actinopterygii, ordem Characiformes, família Serrasalminae (BUCKUP et al., 2007), é conhecida por outros nomes populares como cachama na Venezuela e Colômbia, e gamitama no Peru. No Rio Amazonas, o tambaqui é comumente encontrado da foz do rio Xingu, no Estado do Pará, até o Médio rio Ucaiali, no Peru (ARAÚJO-LIMA e GOULDING 1998; BALDISSEROTTO e GOMES, 2005).

A espécie é um caracídeo redondo de corpo bastante alto, tornando-se mais alongado e levemente comprimido lateralmente na fase adulta (figura 1). É considerado um peixe de grande porte podendo alcançar 100 cm de comprimento e 30 kg de peso (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005; PENNA et al., 2005). Não tem espinho pré-dorsal, apresenta nadadeira adiposa raiada e sua linha lateral é formada por 67 a 76 escamas (VAL e HONCZARK, 1995; ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). A coloração nos adultos varia com a cor da água, sendo mais escura nos indivíduos que vivem em água preta e mais clara nos indivíduos de água barrenta (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; SANTOS et al., 2006; SOARES et al., 2008). Juvenis de até 10 cm de comprimento apresentam uma mancha escura arredondada na região mediana do corpo, ao nível da nadadeira dorsal, que desaparece completamente após este tamanho. Existem diferenças morfométricas no padrão de crescimento entre machos

e fêmeas de tambaqui, indicando a existência de dimorfismo sexual em tambaqui na fase adulta, sendo a fêmea maior e mais pesada, na natureza e em cultivo, após atingir a fase reprodutiva (MELLO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2016).



Figura 1: Tambaqui jovem (Foto: Patrícia Maciel, 2016)

O *Colossoma macropomum* possui dentes molariformes robustos, implantados fortemente na mandíbula o que lhe favorece alimentar-se tanto de zooplâncton quanto de frutos e sementes que caem na água no período de cheia dos rios (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; ABELHA et al., 2001; SANTOS et al., 2006). Os rastros branquiais do tambaqui são longos e numerosos, o que permite filtrar pequenos organismos que flutuam na água (VAL e HONCZARK, 1995; ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

Estima-se que no ambiente natural a expectativa de vida do *C. macropomum* seja entre 13 e 14 anos (ISAAC e RUFFINO, 1996; BARTHEM e FABRÉ, 2004).

3.1 Hábito alimentar

As larvas de tambaqui iniciam a alimentação exógena ao atingirem entre 5 e 7 mm de comprimento, quando passam a consumir zooplâncton, principalmente cladóceros, rotíferos, copépodes e larvas de insetos. Com uma semana de vida (aproximadamente 9 mm de comprimento) passam a consumir invertebrados maiores, como larvas de quironomídeos (ARAÚJO-LIMA e

GOULDING, 1998; SANTOS et al., 2006; GUIMARÃES, 2009). No ambiente natural o tambaqui é onívoro com tendência a zooplanctófago, na fase jovem, e frugívoro exclusivo na fase adulta (SAINT-PAUL, 1984). No período das águas altas os adultos se alimentam principalmente de frutas e sementes da floresta inundada nas margens dos rios e lagos, além de aproveitar a maior disponibilidade de itens alimentares como pequenos insetos, artrópodes, pequenos moluscos, folhas e caules moles. Por outro lado sua alimentação diminui à medida que as águas recuam (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999; BARTHEM e FABRÉ, 2004; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005; SANTOS et al., 2006). Sua dieta varia de acordo com o regime das chuvas, apresentando adaptações morfofisiológicas que o permitem explorar uma ampla gama de itens alimentares (RODRIGUES, 2014). Em cativeiro devido à espécie ser onívora, tem grande capacidade de digerir proteína animal e vegetal e apresenta fácil adaptação à ração artificial (NUNES et al., 2006) e aceita bem ração e grãos (VAL e HONCZARK, 1995). Quando submetido à privação alimentar, demonstra crescimento compensatório com maior deposição de proteína corporal (ITUASSÚ et al., 2004).

3.2 Biologia da espécie

3.2.1 Reprodução e larvicultura

Em lagos e rios a fêmea do tambaqui está madura aos 58 cm de comprimento de acordo com Araujo-Lima e Goulding (1998) e com 70 cm segundo Vieira et al. (1999), o que corresponde a 4 ou 5 anos de idade, embora haja relatos de indivíduos maduros aos três anos (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999; ARAÚJO-LIMA GOMES, 2005). A época de reprodução inicia no período em que realizam a migração reprodutiva, conhecida localmente como piracema, cardumes de adultos lentamente deixam a várzea na vazante e migram contra a corrente subindo o rio principal e seus afluentes. Essa migração, entretanto, não é contínua e cardumes de tambaqui são encontrados em remansos nas margens se refugiando entre troncos de árvores caídas até a época da desova. Desovando nessas áreas de pausadas ou em vegetação marginal nas águas brancas, permanecendo no canal do rio até que a

enchente inunde as florestas novamente (COX-FERNANDES, 1997; ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; COSTA et al., 1999; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). Geralmente a desova ocorre no início da enchente, nos rios de águas brancas, ricas em nutrientes, conhecidos na Amazônia por rios de águas barrentas (VIEIRA et al., 1999; BARTHEM e FABRÉ, 2004; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). As larvas são carregadas pela correnteza para a várzea durante 4 a 15 dias, percorrendo de 400 m a 1.300 km, depois nadam em direção aos lagos de várzea, onde passam a fase juvenil (GUIMARÃES, 2009; SANTOS et al., 2006; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). Naturalmente a proporção sexual de machos e fêmeas de tambaqui é de aproximadamente 1:1 na Amazônia Central (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999). Peixes jovens são encontrados exclusivamente entre capins aquáticos, tanto enraizados quanto flutuantes, localizados nas margens de rios de água branca, em lagos ou enseadas próximas destes rios (SANTOS et al., 2006).

Em sistema intensivo de criação, foi constatado que indivíduos machos iniciam a puberdade mais precocemente que as fêmeas, podendo apresentar desenvolvimento testicular aos cinco meses de idade, enquanto que as fêmeas começam maturação ovariana aos sete meses (SOUZA e ALMEIDA, 2012; ALMEIDA et al., 2016).

Em sistema de criação controlada a reprodução artificial do tambaqui pode ser induzida até duas vezes por ano por fêmea (VAL e HONCZARK, 1995). Os reprodutores percebem os fatores ambientais como a temperatura da água e alterações nas taxas pluviométricas que exercem forte influência na produção de gametas durante a estação reprodutiva da espécie (RIBEIRO e MOREIRA, 2012; GALO et al., 2015).

A fecundidade do tambaqui é considerada alta (quase 13% do seu peso vivo - PV) aumentando com o tamanho e peso das fêmeas (SANTOS et al., 2006). A desova é do tipo total, com produção de grande número de oócitos por desova, sem o cuidado parental (VAZOLLER, 1996; BARTHEM e FABRÉ, 2004; LIMA et al., 2013a). Cada grama de ova de tambaqui contém de 1000 a 1500 oócitos (STREIT Jr et al., 2012; LEITE et al., 2013), que são de tamanho pequeno (< 1,5 mm), livres (não adesivos) e quando em contato com a água hidratam e aumentam muito de

tamanho formando grande espaço perivitelínico (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983).

Sendo um peixe que realiza migração reprodutiva, com deslocamento do local de alimentação e crescimento para o de reprodução, quando em condições de cultivo necessita de receber estímulo hormonal exógeno para indução à espermiacção e ovulação (WOYNAROVICH, 1993; ZANIBONI e BARBOSA, 1996; STREIT Jr et al., 2012; LIMA et al., 2013b).

Assim, a produção de larvas se dá através das técnicas de reprodução induzida artificialmente por hipofisação, quando geralmente é utilizado macerado de hipófise de carpa. Para realizar a indução é necessário selecionar reprodutores que estejam com características externas indicativas de maturidade reprodutiva. Nas fêmeas isso significa a presença de papila genital altamente vascularizada (coloração avermelhada) e ventre distendido. E os machos aptos são aqueles que liberam sêmen sob leve pressão abdominal (WOYNAROVICH, 1993; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; STREIT Jr et al., 2012; LIMA et al., 2013a). A dosagem hormonal baseia-se em aplicação intramuscular, intrabdominal ou intrapeitoral do hormônio, principalmente na base das nadadeiras peitorais e pélvicas (ANDRADE e YASUI, 2003). O produto mais utilizado é o extrato bruto de hipófise de carpa. A indução é realizada em duas doses de hipófise macerada e diluída em soro fisiológico 0,7 - 0,9%. Nas fêmeas, a primeira dose é de 0,5 mg/kg de peso vivo (PV) (10% da dose total), e a segunda, chamada de aplicação decisiva, é de 5 mg/kg PV. O intervalo entre as duas aplicações é de 12 horas. Para o macho, em geral, usa-se uma dose única de 1 mg/kg para peixes pequenos e 2,5 mg/kg para peixes maiores, junto à segunda dose da fêmea (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; STREIT Jr et al., 2012). A desova ocorre por volta de 210 horas-graus (multiplicação do tempo em horas pelo valor médio da temperatura da água) após a segunda dose (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; CAVALCANTE-FILHO et al., 2009; STREIT Jr et al., 2012; SOUSA e CASTRO, 2014).

O processo de extrusão é realizado pela compressão abdominal dos animais com a coleta do sêmen e oócitos em recipientes separados e isentos de água. Para a fecundação geralmente se utiliza a proporção de 1,0 ml de sêmen para fecundar 80 g de oócitos (STREIT Jr et al., 2012). Após fertilizados, os ovos devem ser

hidratados com um volume de água em torno de 10 vezes o volume do oócito, com três trocas de água e repouso a cada dois minutos (STREIT Jr et al., 2012). Em seguida, estes devem ser levados para incubadoras na densidade de 100 a 200 g para cada 200 litros de água. Os ovos devem permanecer nas incubadoras até a eclosão ou por 3 a 6 dias, dependendo do manejo da estação de larvicultura. Durante a incubação dos ovos de tambaqui, à velocidade da vazão da água que abastece as incubadoras pode dividir-se em três partes: no primeiro terço, de 1 a 2 litros/minuto; no segundo terço, de 3 a 4 litros/minuto; no terço final, de 5 a 6 litros/minuto (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; STREIT Jr et al., 2012).

O tempo de desenvolvimento embrionário é 14 a 18 horas em temperatura de 25 a 29 °C. No entanto, a eclosão pode ocorrer com 12 horas após a incubação. As larvas abrem a boca com cerca de 36 horas pós eclosão, quando começam a se alimentar de zooplâncton filtrado (PEDREIRA et al., 2015).

3.2.2 Clima e água

O tambaqui tem hábito diurno e se desenvolve bem em criações em todas as regiões do país com clima quente e boa luminosidade. Vários autores têm relatado efeitos da luminosidade e temperatura no crescimento e desenvolvimento dos peixes, sendo que tanto fotoperíodo longo quanto temperaturas mais elevadas estimulam o crescimento dos juvenis de tambaqui (MENDONÇA et al., 2009; MENDONÇA et al., 2012).

Na natureza, os locais de preferência do tambaqui são as águas ricas em nutrientes, com condições físico-químicas estáveis em toda a coluna de água, próxima à margem, com temperaturas variando de 25 a 34 ° C e pH entre 7 e 8 (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005; IZEL et al. 2014). A concentração de oxigênio dissolvido nestas águas é superior a 4 mg/L (ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). O animal demonstra boa resistência e tolera níveis baixos entre 3,0 até 1,0 mg/L de oxigênio dissolvido e apresenta adaptações à condição de hipóxia, por exemplo, os lábios deste peixe ficam espessos e hiperemiados, assim a espécie é capaz de sobreviver durante certo período em

áreas com baixos teores de oxigênio dissolvido na água (KOHLA et al., 1992; VAL, 1995; Val et al., 1998). Situações de hipóxia são comumente observadas em lagos de várzea, igapós e poças temporárias, devido as altas taxas de decomposição, principalmente de macrófitas e liteira, acarretando na redução dos níveis de oxigênio dissolvido (JUNK, 1983; VAL, 1995). Já em ambientes de cultivo, o tambaqui apresenta bom desenvolvimento em águas com alcalinidade e dureza superior que 30 mg/L e em temperaturas entre 27 e 30 °C (IZEL et al. 2014) e a faixa de pH considerada boa para a espécie em cultivo é entre 4,0 e 6,5 (ARIDE et al., 2004). Segundo Aride et al. (2007), o tambaqui possui tolerância relativa ao ambiente de água ácida com estratégias adaptativas que envolvem ajustes hematológicos, regulação iônica e produção de muco.

3.2.3 Cultivo

O investimento na produção de tambaqui tem surtido efeito em aumento da produtividade e atualmente de cada cinco tambaquis consumidos, quatro são provenientes de cativeiros (INOUE e BOIJINK, 2010). Embora alguns fatores estressantes ocorram em condições de cativeiro como alterações na química da água, altas densidades de estocagem e manuseio excessivo (WENDEMEYER, 1996; WENDELAAR BONGA, 1997), o tambaqui apresenta bons índices zootécnicos de crescimento com o fornecimento de alimentos artificiais.

Na região Norte, o cultivo do tambaqui é facilitado e vantajoso pelas condições climáticas locais. Diversos sistemas de produção vêm sendo propostos para o cultivo da espécie no Amazonas, como o cultivo em viveiros escavados, em tanques, em canais de igarapé e em barragens (MELO et al., 2001; IZEL e MELO, 2004; IZEL et al., 2014). No Amazonas, os empreendimentos distribuem-se pelo Estado em função do escoamento da produção para a cidade de Manaus, principal mercado consumidor e uns dos principais pólos geradores e fornecedores de tecnologia e insumos (IZEL et al., 1996). Em regiões do semiárido nordestino têm sido usado também os canais de irrigação para o cultivo de tambaqui como uma alternativa de baixo custo para a região, e ainda por manter a boa qualidade da água dentro dos padrões adequados para o multiuso (SILVA et al., 2013).

Regularmente o cultivo de tambaqui é dividido em três fases: i) larvicultura ii) recria e iii) engorda (LIMA et al., 2013a). A maioria dos produtores praticam somente as duas últimas fases e para isso adquirem juvenis (nomenclatura sugerida por GOMES et al., 2003) com cerca de 2 a 5 cm, ou juvenil avançado (nomenclatura sugerida por GOMES et al., 2003) com 6 a 8 cm, por serem mais resistentes às adversidades dos viveiros (GOMES et al., 2004; LIMA et al., 2013b; IZEL et al., 2014). Porém o número de fases varia de duas a três conforme alguns autores, por exemplo, para Gomes (2011) existem duas fases de criação, a recria e a engorda, compreendendo como recria animais de 2 a 50 g de peso, e a fase de engorda peixes acima de 50 g até 3 kg. Melo et al. (2001), também falam na criação de tambaquis em duas fases, (i) a de produção de juvenis que dura em torno de dois meses, (ii) e a de engorda que dura em torno de dez meses. Já Dairiki e Silva (2011), dividem a criação de tambaqui em três fases, (i) a larvicultura onde os peixes são criados desde a eclosão até o peso médio individual de 0,5 a 1g com duração de 30 a 45 dias, (ii) a produção de juvenis que dura em torno de 60 dias e o peso médio individual é entre 40 e 50 g, e (iii) a fase de engorda em que o tempo varia dependendo do peso desejado para abate.

Além da água rica em plâncton, produtores de tambaqui fornecem ração farelada (55% de proteína bruta - PB), ofertada à vontade como fonte de alimento às larvas, pois proporciona melhor desempenho produtivo e sobrevivência (PEDREIRA et al., 2015). A densidade para as fases de recria e engorda também varia entre alguns autores e conforme o sistema de produção como indica a Tabela 1.

Tabela1. Manejo para o tambaqui nas fases de cultivo

Sistema de Tanque Rede						
Tamanho médio (cm)	Peso médio (g)	Densidade (Peixe/m ³)	Taxa de alimentação em peso vivo dia (%)	Refeições por dia	Proteína Bruta (%)	Referência
Recria	1 a 3 – 20 - 40	-	>10	Refeições por dia	34	Silva et al., 2007
	25	60	Até saciedade aparente	2	32	Sens et al.,2012
-	55 - 200	15	5	2	34	Chagas et al., 2005
14	100 - 500	30	3	3	28	Corrêa et al., 2009

~ 18	200	15	1	2	28	Chagas et al, 2007
2,47	0,24	400	Até saciedade aparente	3	36	Brandão et al., 2004
Recria	0,35 73 -	300		3	32	Silva e Fujimoto, 2015
Engorda	1Kg	20	-	1,2	32	
Sistema semi intensivo em viveiro de argila/barragens						
1,5	0,3	10	5-10	4	32	Melo et al., 2001
10,5	45	3.250	1 e 5	2	28	
Recria	1-2	10	10	4 a 6	40	Izel et al., 2014
Sistema intensivo em viveiro de argila com aeração						
Engorda	160 – 1Kg	40	4	3	32	
	1-2 Kg	7 mil/ha	3	2	28	Izel et al., 2013
	> 2 Kg		2	1	28	

Em sistemas semi-intensivos podem ser adensados 2500 peixes/ha, entretanto em criação intensiva com uso de aeradores essa densidade sobe para 7000 peixes/ha (IZEL et al., 2014). Em sistema de cultivo intensivo, o tambaqui apresenta bom desempenho, podendo alcançar de 2,7 - 3,3 kg ao final de 12 meses de criação em viveiros (MELO et al., 2001; IZEL et al., 2013; LIMA et al., 2013b; IZEL et al., 2014). Para fazer os cálculos de arraçoamento, devem ser realizadas biometrias em amostras da população a cada 15 ou no máximo 30 dias para verificar a biomassa do plantel (MELO et al., 2001; IZEL e MELO 2004; IZEL et al., 2014).

O tambaqui é comumente comercializado in natura, como peixe fresco ou congelado. Um dos principais problemas no processamento é a presença de espinhos intramusculares em forma de Y (PERAZZA et al., 2016). No beneficiamento, o tambaqui mostrou um rendimento total de carcaça de 63,71% em peixes com média de 40,23 cm e com peso médio de 1,54 kg (CARTONILHO e JESUS, 2011), sem grande variação durante o ano (SOUZA e INHAMUNS, 2011). Cortes congelados de tambaqui mantêm bom estado de conservação por até 180 dias a -25 °C. (CARTONILHO e JESUS, 2011). A comercialização como *sous vide*, a vácuo, é uma excelente alternativa para a inserção do produto no mercado pois aumenta a vida de prateleira do produto (RAMOS et al., 2016).

3.2.4 Pesca

A produção de tambaqui pela pesca comercial tem sofrido considerável redução em toda a Amazônia em virtude do grande esforço de pesca (BATISTA e PETRERE Jr., 2003), do total de peixes capturados para pesca comercial, o tambaqui apresentava o maior volume de captura (BOISCHIO, 1992). Petrere Jr. (1983) afirma que no final da década de 1970, cerca de 40% do desembarque de pescado em Manaus era de tambaqui, sendo a espécie mais explorada na Amazônia Central na época, mas sua captura declinou durante os anos 80 e a espécie entrou na sobrepesca (MERONA e BITTENCOURT, 1988). O que levou o IBAMA a colocar a espécie à lista de protegidos no período de defeso (1º de novembro a 28 de fevereiro), fica proibida a pesca da espécie para ajudar na recuperação dos estoques, que coincide com a época de migração para reprodução, (BOISCHIO, 1992; VAL e HONCZARK, 1995; IBAMA,2003). Além do período de defeso, o IBAMA estabeleceu também restrições para pesca em qualquer época por meio de portarias (Portaria 65 e 67 de 30/10/2003) que regulam o tamanho mínimo para captura e comercialização da espécie seja de indivíduos maiores de 55 cm de comprimento total (BATISTA et al., 2004).

Embora o tambaqui possa alcançar até 100 cm de comprimento, 50% dos peixes capturados em embarcações de pesca tinham o tamanho de 28,5 cm no ano de 1992 (ISAAC e RUFFINO, 1996). Já entre 2000 e 2005 foi registrado que o tamanho mais comum dos peixes capturados era de 40 a 50 cm (SÁNCHEZ-BOTERO e GARCEZ, 2005). Após esse período houve uma drástica redução no tamanho de tambaquis selvagens, pois dentre os animais capturados em 2007 e 2008 apenas 1% encontrava-se com tamanho igual ou acima do limite permitido pelo IBAMA (SOUSA et al., 2008; GARCEZ e FREITAS, 2010). Assim, fica evidente que os valores de taxa de exploração e mortalidade pela pesca no Baixo Amazonas são excessivos e acima do rendimento máximo sustentável, indicando uma sobre pesca nos estoques remanescentes (ISAAC e RUFFINO, 1996; SÁNCHEZ-BOTERO e GARCEZ, 2005; SOUSA et al., 2008).

4. Conclusão

Originalmente obtido pela pesca extrativista, hoje com as medidas de proteção aos estoques naturais o tambaqui é criado na maioria dos estados do país. A criação de

tambaqui vem se intensificando constantemente nos últimos anos e hoje é a segunda espécie mais produzida comercialmente no Brasil. Esse fato tem impulsionado os estudos voltados à espécie, desde sua fisiologia, genética, preservação, ecologia a tecnologias de produção. Certamente em futuro breve novos conhecimentos embasarão o desenvolvimento tecnológico da produção sustentável do tambaqui, agregando valor ao produto, e preservando suas populações selvagens remanescentes.

5. Agradecimentos

À Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas pelo apoio institucional às autoras.

6. Referências

ABELHA, M. C. F.; AGOSTINHO, A. A.; GOULART, E. "Plasticidade trófica em peixes de água doce." **Acta Scientiarum**, Biological Sciences 23, 425-434, 2001.

ALMEIDA, F. L.; LOPES, J. S.; CRESCENCIO, R.; IZEL, A. C. U.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. **Aquaculture**, 452, 224-232, 2016. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, p.166-172, 2003.

ARAÚJO-LIMA C. A. R. M.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq., 1998, 186 pp.

ARAÚJO-LIMA, C. e GOMES, L. Tambaqui *Colossoma macropomum*. In: BALDISSEROTO, B. e GOMES, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005, 1 ed., pp. 175-202.

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R. E. VAL, A. L. Water pH in central Amazon and its importance for tambaqui (*Colossoma macropomum*) culture. **World Aquaculture**, 35: 24-27, 2004.

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) to water pH. **Aquaculture Research**, 38: 588-594, 2007.

BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L. C. Organizadores; **Espécies Nativas Piscicultura no Brasil**. Santa Maria: editora. UFSM, 2005 1 ed., p. 175, 184.

BARTHEM, R. B.; FABRÉ, N. N. **Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazônia**. In: A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira / Coordenado por Mauro Luis Ruffino. – Manaus: Ibama/ProVárzea, 2004. 272 p:il. ISBN 85 - 7401 - 124 – X.

BATISTA, V. S.; ISAAC, V. J.; VIANA, J. P. Exploração e manejo dos recursos pesqueiros da Amazônia. In: **A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira** / Coordenado por Mauro Luis Ruffino. Manaus: Ibama/ProVárzea, 2004. 272 p:il ISBN 85 - 7401 - 124 – X.

BATISTA, V. S.; PETRERE Jr., M. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas state, Brazil . **Acta Amazônica**, 33.v.1,p. 53-66, 2003.

BOISCHIO, A. A. P. Produção pesqueira em Porto Velho, Rondônia (1984-89) - alguns aspectos ecológicos das espécies comercialmente relevantes. **Acta Amazônica**, v. 22, n. 1, p. 163-172, Mar. 1992, Manaus. <http://www.scielo.br/scielo>. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-43921992221172>. access on 01 May 2016.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; ARAÚJO, L. D. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Embrapa – Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39: 357-362, 2004.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. Brasília, 2010. Disponível em: http://www.sepaq.pa.gov.br/files/u1/anuario_da_pesca_completo.pdf>.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. A. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**, v. 1, 2007. Rio de Janeiro: Museu Nacional.

CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 4, p. 344-350, 2011.

CAVALCANTE-FILHO, L. A.; BRITO, L. T.; CUNHA, K. L.; JÚNIOR, P. M.; AMORIM, M. J. A. L. **Técnica de Propagação Artificial em Tambaqui (*Colossoma macropomum*)** (Cuvier, 1818). **UFRPE**, 2009.

CHAGAS, E. C., GOMES, L. C., JÚNIOR, H. M., ROUBACH, R. E LOURENÇO, J. N. P. Desempenho de tambaqui cultivado em tanques-rede, em lago de várzea, sob diferentes taxas de alimentação. *Notas Científicas*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **40**, Brasília, n.8, p.833-835, Ago. 2005.

CHAGAS, E. C.; GOMES, L. de C.; MARTINS-JUNIOR, H.; ROUBACH, R. Produtividade de tambaqui criado em tanque-rede com diferentes taxas de alimentação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1109–1115, 2007.

CORRÊA, R. O.; TEIXEIRA R. N. G.; FONSECA, V. S.; ALBUQUERQUE, F. E. A. Frequência alimentar de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818),

cultivados em tanques-rede. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA 2009. 5p. (Embrapa Amazônia Oriental. **Comunicado Técnico** 221). ISSN 1983-0505 Outubro, 2009.

COSTA, L. R. F.; BARTHEM, R. B.; CORREA, M. A. V. Manejo da pesca do tambaqui (*Colossoma macropomum*) nos lagos de várzea da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. In: QUEIROZ, H. L.; CRAMPTON, W. G. R. (Ed.). **Estratégias para o manejo de recursos pesqueiros na Reserva de Desenvolvimento sustentável Mamirauá**. Brasília:SCM/MCT-CNPq, 1999. p. 142-158.

COX-FERNANDES, C. Lateral migrations of fishes in Amazon floodplains. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 6, p. 36-44, 1997.

DAIRIKI, J. K.; SILVA, T. B. A. Revisão de literatura: Exigências nutricionais do tambaqui – Compilações de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2011. Documentos; 91, p. 44. Serie III. Disponível em:<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/931300>>. Acesso em: 18 ago. 2016.

GARCEZ, R. C. S.; FREITAS, C. E. C. Seasonal catch distribution of tambaqui (*Colossoma macropomum*), Characidae in a central Amazon floodplain lake: implications for sustainable fisheries management. **Journal of Applied Ichthyology**, p.1-4, 2010. doi: 10.1111/j.1439-0426.2010.01521.x.

GOMES, L. C. Criação de Tambaqui *Colossoma macropomum* em viveiro. Laboratório de Ecologia Aquática, Centro Universitário Vila Velha, Macapá, 2011. Disponível em: <www.cpfap.embrapa.br>. Acesso em: 09 nov. 2016.

GOMES, L. C.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R. Alevino – um termo equivocado na piscicultura brasileira com consequências no setor produtivo. **Debate. Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 353-359, maio/ago, 2003.

GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R.; CHAGAS, E. C.; BARRONCAS, F. M. F.; LOURENÇO, P. J. N. Efeito do volume do tanque-rede na produtividade de tambaqui (*Colossoma macropomum*) durante a recria. **Acta Amazônica** [online], vol.34, n.1, pp. 111-113, 2004. ISSN 1809-4392.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2010. p.175-204.

GUIMARÃES, S. F. in – Organizadores: VAL, A. L.; SANTOS, G. M. **Recursos pesqueiros amazônicos: uma análise conjuntural**. TOMO II. Manaus: INPA, 2009. v. 1, p. 978-985. ISBN : 978-85-211-0050-8.

INOUE L, A. K. A.; BOIJINK, C. L. **Manaus: a capital do tambaqui**. Agrosoft. Brasil, 30 dez. 2010. Disponível em: <http://agrosoft.com/pdf.php/?node=216621>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Grandes Regiões e Unidades da Federação. 1st edn. Rio de Janeiro: v. 41, IBGE, 2014.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro 2013, v. 41, p.1-108, 2013.: IBGE, 2014

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. **Portaria N° 08, 2 de Fevereiro de 1996**. Art. 5°.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. **Portaria nº 65 e 67, de 30 de outubro de 2003**. Publicada do DOU em 31/10/2003 – Seção 1 – Pág.60.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis IBAMA. Divulga estatísticas de 2004. **Panorama da Aquicultura**, v. 92, 2006. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Aquicultura, Manaus, AM.

ISAAC, V. J.; e RUFFINO, M. L. Population dynamics of tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, in the Lower Amazon, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, 3, 315–333, 1996.

ITUASSÚ, D. R.; SANTOS, G. R.; ROUBACH, R. E PEREIRA-FILHO, M. Desenvolvimento de tambaqui submetido a períodos de privação alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.12, p.1199-1203, dez. 2004.

IZEL, A. C. U.; CRESCENCIO, R.; O'SULLIVAN, F. L. A.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. L.; SILVA, J, I. Produção intensiva de tambaqui em tanques escavados com aeração. **Circular técnica**, 39, 2013, p 4,. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental.

IZEL, A. C. U.; CRESCENCIO, R.; O'SULLIVAN, F. L. A; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. L. Cultivo do tambaqui no Amazonas. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 51 p. **ABC da Agricultura Familiar**, 36.

IZEL, A. C. U.; PERIN, R.; MELO, A. S. Desempenho de matrinxã (*Brycon cephalus*) submetidos a dietas com diferentes níveis proteicos na Amazônia Central. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. **Anais**. p. 258-259. Embrapa Roraima.

IZEL, A. C.; MELO, L. A. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em tanques escavados no estado do Amazonas. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2004, 20 p. Série Documentos 32.

JACOMETO, C. B.; BARRERO, N. M. L.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. D. P. Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 45 481-487, 2010.

JUNK, W. J. **As águas da Região Amazônica**. 1983. pp. 45-100. IN: SALATI, E.; JUNK, W. J.; SCHUBART, H. O. R.; OLIVEIRA, A. E. (Eds.). Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia. CNPq/Brasiliense, São Paulo.

KOHLA, U.; SAINT-PAUL, U.; FRIEBE, J. et al. Growth, digestive enzyme activities and hepatic glycogen levels in juvenile *Colossoma macropomum* Curvier from South America

during feeding, starvation and refeeding. **Aquaculture Fisheries Management**, v.23, n.1, p.189-208, 1992.

LEITE, L. V.; MELO, M. A. P.; OLIVEIRA, F. C. E.; PINHEIRO J. P. S.; CAMPELLO, C. C.; NUNES, J. F.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. Determinação da dose inseminante e embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. [online]. v.65, n.2, pp. 421-429, 2013.

LIMA, A. F., MORO, G. V., KIRSCHNIK, L. N. G., BARROSO, R. M. Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes. In: RODRIGUES, A. P. O... [et al] (Editores técnicos). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Embrapa Pesca e Aquicultura. Brasília, DF: Embrapa, 2013a. 440 p. 1ª edição ISBN 978-85-7035-272-9 CDD 639.3.

LIMA, A. F.; MORO, G. V.; KIRSCHNIK, L. N. G.; BARROSO, R. M. Engorda de peixes. In: RODRIGUES, A. P. O... [et al] (Editores técnicos). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Embrapa Pesca e Aquicultura. Brasília, DF: Embrapa, 2013b. 440 p. 1ª edição ISBN 978-85-7035-272-9 CDD 639.3.

LOBO, F. P.; CINTRA, L. C.; VARELA, E. S.; ALVES, A. L.; VILLELA, L. C. V.; SILVA, N. M. A. da; PAIVA, S. R.; CAETANO, A. R. Novo genome assembly of the South American freshwater fish Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: **Plant & Animal Genome Conference**, 23., 2015, San Diego, CA. [Abstracts...]. San Diego: [s.n.], 2015. PAG 2015. Pôster P0231.

MELLO, F. O.; RIBEIRO, C. A. L.; RESENDE, R. P.; EMIKO K., POVH, J. A.; FORNARI, D. C.; BARRETO, R. V.; MCMANUS, C.; e STREIT JR, D. Growth curve by Gompertz non linear regression model in female and males in tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 87(4), 2309-2315. Epub 27 de novembro de 2015. Disponível em <https://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201520140315>.

MELO, L.A.S.; IZEL, A.C.U.; RODRIGUES, F. M. Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no estado do Amazonas. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 25p, 2001.

MENDONÇA, P. P.; VIDAL-JUNIOR, M. V.; POLESE, M. F.; SANTOS, M. V. B.; REZENDE, F. P.; ANDRADE, D. R. Morphometrical development of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) under different photoperiods. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.6, p.1337-1341, 2012. Sociedade Brasileira de Zootecnia. Disponível em www.sbz.org.br. ISSN 1806-9290.

MENDONÇA, P.P.; FERREIRA, R. A.; VIDAL JUNIOR, M. V., ANDRADE, D. R.; SANTOS M.V.B.; FERREIRA, A.V.; E REZENDE, F.P. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma Macropomum*). *Revista Archivos de Zootecnia*, v. 58, n.223, pp. 323-331, 2009. ISSN 0004-0592.

MENEZES, A. **Aqüicultura na Prática: peixes, camarões, ostras, mexilhões, sururus**. 4ª edição, Espírito Santo: Ed.UFES, 2010. 142 p.

MENEZES, J. T. B.; QUEIROZ, L. J.; DORIA, C. R. C.; MENEZES JR, J. B. "Avaliação espermática pós descongelamento em tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)." **Acta Amazônica**, 38.2, 365-368, 2008.

MERONA, B.; BITTENCOURT, M. M. A pesca na Amazônia através dos desembarques no mercado de Manaus: resultados preliminares. **Memoria Sociedad de Ciencias Naturales La Salle**. XLVIII: 433-453, 1988.

MERONA, B.; BITTENCOURT, M.M. 1988. A Pesca na Amazônia através dos desembarques no mercado de Manaus: Resultados Preliminares. **Memoria. Sociedade de Ciencias Naturales La Salle**. Suplemento 1988: 433-453.

NUNES, E. S. S.; CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M. E ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 139-143, 2006.

PEDREIRA, M. M.; SCHORER, M.; FERREIRA, A. L. Utilização de diferentes dietas na primeira alimentação de larvas de tambaqui. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.16, n.2, p.440-448, 20015. Disponível em www.rbspa.ufba.br. ISSN 1519 9940 <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-99402015000200018>.

PENNA, M. A. H.; VILLACORTA-CORRÊA, M. A.; WALTER, T.; PETRERE JUNIOR, M. Growth of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) (Characiformes: Characidae): which is the best model? **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, n. 1, p. 129-139, 2005.

PERAZZA, C. A.; MENEZES, J. T. B.; FERRAZ, J. B. S.; PINAFFI, F. L. V.; SILVA, L. A.; HILSDORF, A. W. SILVA. Lack of intermuscular bones in specimens of *Colossoma macropomum*: Na unusual phenotype to be incorporated into genetic improvement programs. **Aquaculture**, AQUA-632142, p. 4, 2016.

PETRERE, Jr. M.. Yield per recruit of tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, in the Amazonas State, Brazil. **Journal of Fish Biology**, v. 22, 133-144, 1983.

RAMOS, F. C. P.; LOURENÇO, L. F. H.; JOELE, M. R. S. P.; LIMA, C. L.; S. C. A. RIBEIRO. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) *sous vide*: characterization and quality parameters *Sous vide* de tambaqui (*Colossoma macropomum*): caracterização e parâmetros de qualidade. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 117-130, 2016. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n1p117.

REIS, R. E, S. O. KULLANDER E C. J. FERRARIS (eds). **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre Ed. pucrs, 2003, 730 p.

REIS, R. E. Conserving the freshwater fishes of South America. **International Zoo Yearbook**, 47, 65-70, 2013.

REIS, R. E.; ALBERT, J. S.; DI DARIO, F.; MINCARONE, M. M., PETRY, P.; Rocha, L. A.; Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12-47, 2016.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, 8, 2012. Disponível em [www. ib.usp.br/revistadaBiologia](http://www.ib.usp.br/revistadaBiologia).

RODRIGUES, A. P. O. NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*). **Boletim Instituto Pesca**, São Paulo, 40. v. 1, p. 135 – 145, 2014.

SAINT-PAUL, U. Ecological and Physiological investigations of *Colossoma macropomum*, a new species for fish culture in Amazonia. **Memorias de La Asociation Lalinoamericana de Acuicultura**, v. 5, p. 501-518, 1984.

SÁNCHEZ-BOTERO, J. I.; GARCEZ, D. S. Histórico do comprimento do comprimento total de tambaqui (*Colossoma macropomum*, CHARACIFORMES: CHARACIDAE, CUVIER, 1818) desembarcado no mercado de Tefé, Amazonas, Brasil, com nove recomendações para o manejo pesqueiro da espécie. **UAKARI**, Revista Eletronica, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamiraua. pp 12, 2005.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comercias de Manaus**. In: Geraldo (Ed.). – Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006. p. 144, il. ISBN 85-7300-211-5.

SENS, D. R.; REIS, D. D.; SILVA, L. A.; SILVA, Í. Crescimento de juvenis de tambaquis (*Colossoma macropomum*) estocados em tanques rede em diferentes densidades. **IV Encontro Nacional dos Núcleos de Pesquisa Aplicada em Pesca e Aquicultura**, 4 a 8 de dezembro de 2012.

SILVA, A. D. R.; SANTOS, R. B.; BRUNO, A. M. S. S.; SOARES, E. C. Cultivo de tambaqui em canais de abastecimento sob diferentes densidades de peixes. **Acta Amazônica**, 43(4), 517 – 524v, 2013.

SILVA, C. A.; FUJIMOTO, R. Y. Crescimento de tambaqui em resposta a densidade de estocagem em tanques-rede. **Acta Amazônica**, v. 45(3), 323–332, 2015. Disponível: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201402205>.

SILVA, C.R.; GOMES, L.C.; BRANDÃO, F.R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. **Aquaculture**, 264, 135-139, 2007.

SOARES, M. G. M.; COSTA, E. L.; SIQUEIRA-SOUZA, F. K.; ANJOS, H. D. B.; YAMAMOTO, K. C.; FREITAS, C. E. C. (organizadores). **Peixes de lagos do Médio Rio Solimões**, 2. ed. rev. Manaus: Instituto I-Piatam, 2007, 160p. Solimões – Amazonas. PIATAM: P378 CDD 363.7098113. ISBN 8574012643.

SOUSA, R. G. C.; CASTRO, A. Adequação do uso da hora-grau (hg) em horas contínuas para a reprodução de tambaqui na região do Baixo Amazonas. **Scientia Amazônia**, v. 3, n.1, 75-80, 2014. Disponível em <http://www.scientia.ufam.edu.br>. ISSN: 2238.1910.

SOUSA, R. G. C.; FREITAS, C. C. E.; WITKOSKI, A. C.; e BRITO, S. M. A. Mudanças Sociais na Pesca Artesanal: Um Estudo a partir da Pressão Sobre o Estoque de Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) do Lago Grande de Manacapuru (Am). **IV Encontro Nacional da Anppas**. 4, 5 e 6 de junho de 2008. Brasília - DF – Brasil

SOUZA, A. F. L.; INHAMUNS, A. J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta amazônica**, vol. 41(2), 289 – 296, 2011.

SOUZA, J. S. L.; ALMEIDA, F. L. Desenvolvimento gonadal de tambaqui *Colossoma macropomum*. **Anais** da IX Jornada de iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental – Manaus, 2012. Documentos; 100 - 320 p. ISSN 1517- 3135 CDD 501.

STREIT, J. R. D. P.; POVH J, A.; FORNARI, D. C.; GALO, J. M.; GUERREIRO L. R. J.; OLIVEIRA, D. Recomendações técnicas para a reprodução do tambaqui. **Embrapa**, 29, 2012. Documento 212.

VAL, A. L. Oxygen transfer in fish: morphological and molecular adjustments. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 28, 1119-1127, 1995.

VAL, A. L.; ROLIM, P. R.; RABELO, H. Situação atual da aquicultura na Região Norte. In: VALENTE, W. C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. (Ed.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília, DF: CNPq; MCT, 2000. p. 247-266.

VAL, A. L.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL, E. V. M. F. "Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task." **South African Journal of Zoology**, 33.2, 107-114, 1998.

VAL, A.; HONCZARK, A. **TAMBAQUI: Criando peixes na Amazônia**. 19^a Ed. Manaus: INPA, 1995, 160p. cdd ISBN:85-211-0003-5.

VAZZOLER, A. E. A. de M. **Biologia da reprodução de peixes teleosteos: teoria e pratica**. Maringá:. EDUEM; Sao Paulo: 1996. SBI. 169 p.

VIEIRA, E. F.; ISAAC, V. J.; FABRÉ, N. N. Biologia Reprodutiva do Tambaqui *Colossoma macropomum* CUVIER, 1818 (Teleostei Serrasalmideo) no Baixo Amazonas Brasil. **Acta Amazônica**, 29(4), 625-638, 1999.

VILLACORTA-CORREA, M. A.; e SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, 637-652, 1999.

WEDEMEYER, G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. **Chapman e Hall**, 2, 10-59, 1996.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Revista Physiologia**, 77 (3), 591- 625, 1997.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, S. L. **A propagação artificial de peixes das águas tropicais: manual de extensão**. Trad. Vera Lúcia de Mixtro Chama. Brasília: FAO/Codevasf/CNPq,1983.

WOYNAROVICH, E. **Manual de piscicultura**. Traduzido por MELO, M. J. Brasília: CODEVASF, 1993. 71 p.; IL. CDU 639.311.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER A. P. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI E. C.; FRACALOSSO D. M.; CASTAGNOLLI Y. N. (Org.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática**, 2004. p. 45-73.

Capítulo 2.

Determinação sexual e métodos de sexagem em teleósteos

1 Introdução

Determinação sexual é o mecanismo que estabelece o sexo (gênero) de um organismo ainda em desenvolvimento, enquanto que diferenciação sexual é o processo morfológico pelo qual uma gônada indiferenciada passa ao se transformar em ovário ou testículo.

O processo de determinação do sexo nos mamíferos, já bem elucidado, é decidido no momento da fertilização, com a presença dos cromossomos X e Y. Os genes presentes neste par de cromossomos definem o sexo do zigoto através de fatores transcricionais, hormônios e receptores hormonais, que levam então ao desenvolvimento do sexo masculino ou feminino, pela especialização da gônada indiferenciada em testículo ou ovário (DOMENICE et al., 2002; MELLO et al., 2005). Para ocorrer a diferenciação das gônadas são necessários vários mecanismos bioquímicos resultantes da expressão de genes específicos que atuam desde a formação da gônada ainda bipotencial até a diferenciação dos genitais internos e externos (DOMENICE et al., 2002; MELLO et al., 2005). Assim, enquanto a determinação sexual em mamíferos ocorre no momento da concepção, a diferenciação das gônadas ocorre em tempos diferentes, dependendo da espécie. Em humanos, por exemplo, a formação das gônadas acontece na 7^a semana, com o sexo fenotípico e cerebral, e por último a ativação do comportamento sexual, que ocorre durante a puberdade (CAMARGO, 2012).

Em peixes, embora existam muitos estudos sobre determinação e diferenciação sexual, pouco foi esclarecido até o momento, pois existe uma grande variedade de mecanismos que controlam a formação e identidade sexual em teleósteos (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; PENMAM e PIFERRER, 2008). No caso de teleósteos, existem diferentes mecanismos determinantes do sexo que variam de genético (cromossômico ou poligênico) a ambiental (interação genótipo-ambiente; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; PENMAN e PIFERRER, 2008). Quanto às alterações morfológicas, também não está claro se o destino da gônada em desenvolvimento é determinado em nível bioquímico ou celular e nem mesmo se é iniciada nas células germinativas ou nas células somáticas presentes nas gônadas, ou ainda se

acontece nas duas ao mesmo tempo (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002). Ademais, os eventos que culminam com a diferenciação sexual em teleósteos ocorrem de forma e em momentos distintos em diferentes grupos, havendo grandes diferenças mesmo entre espécies próximas. Como resultado, existe uma ampla variedade nos tipos de determinação sexual, bem como nos processos de diferenciação sexual entre as espécies de teleósteos.

Tão importante quanto identificar o mecanismo de determinação sexual de peixes, é identificar o sexo dos peixes quando não há um dimorfismo sexual aparente. A sexagem é de extrema importância na piscicultura, seja nos laboratórios de reprodução ou programas de melhoramento genético. Em sua maioria, quanto mais cedo o sexo de um peixe é identificado, maiores são as vantagens, seja na seleção e manejo de reprodutores ou na produção de lotes monosexo.

2 Tipos de determinação sexual

2.1 Genética

Muitas espécies de peixes apresentam sistema de determinação sexual genético. Este sistema decide o sexo do indivíduo no momento da fertilização (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002), semelhante aos mamíferos. Nestes casos, os genes responsáveis pela formação de ovários e testículos podem estar alocados restritamente em um ou mais pares de cromossomos, conhecidos por cromossomos sexuais (determinação cromossômica) ou espalhados nos autossomos (determinação poligênica).

2.1.1 Cromossômica

A determinação sexual de uma dada espécie é dita cromossômica ou monofatorial quando os genes responsáveis pela formação de ovários e testículos se concentram em um ou mais pares de cromossomos, geralmente heteromórficos.

Alguns peixes possuem o sistema de determinação sexual marcado pela presença dos cromossomos sexuais XX/XY, onde os machos são heterozigotos. O medaka *Oryzias latipes* e outras espécies do gênero, *O. curvinotus* e *O. luzonensis*,

são exemplos de espécies que possuem esse sistema de determinação. Também o linguado japonês *Paralichthys olivaceus* é um teleósteo com um sistema de determinação de sexo cromossômico XX/XX (YAMAGUCHI et al., 2010; CNAANI et al., 2008). Outro grupo que de modo geral apresenta cromossomos sexuais XX/XY é o dos Salmonídeos (IJIRI et al., 2008; WILSON et al., 2014; DEVLIN et al., 1994; HAYASHI et al., 2010).

As tilápias apresentam duas formas de determinação cromossômica. Nas espécies *Oreochromis niloticus* e *Tilapia zillii* os machos são dominantes, identificados como heterogamético simples XY e nas espécies de *Oreochromis karongae* e *Tilapia mariae* as fêmeas são dominantes (sistema WZ/ZZ; CNAANI et al., 2008; VALDIVIA et al., 2014). Wilson et al. (2014) observaram que o paulistinha *Danio rerio* selvagem possui o sistema cromossômico ZW/ZZ, e que nas populações de laboratório o genoma de referência não possui os mesmos componentes de determinação do sexo que a linhagem selvagem, sugerindo que pode ter ocorrido variação no mecanismo de determinação nas espécies manejadas durante duas décadas em cultivo induzido em laboratório.

Outra espécie curiosa é a traíra *Hoplias malabaricus*, peixe neotropical, que é bem conhecido por sua diversidade cariotípica e variação nos cromossomos sexuais, possuindo cerca de sete cariomorfos (CIOFFI e BERTOLLO, 2010). A tabela 1 apresenta espécies de peixes cujo sistema de determinação sexual já foi identificado.

Tabela 1. Teleósteos com sistema de determinação sexual conhecido. (Adaptado de Reis, 2015).

Espécie	Determinação sexual	Referências
<i>Brachyhypopomus gauderio</i>	C - X1X1X2X2/X1X2Y	Mendes et al., 2012
<i>Cynoglossus semilaevis</i>	C	Chen et al., 2007
<i>Cyprinus carpio</i>	C	Davidson et al., 2009
<i>Danio rerio</i>	C - ZW/ZZ (estirpe selvagem)	Wilson et al., 2014 Liew et al., 2012
<i>Dicentrarchus labrax</i>	P→ESD	Koumoundouros et al., 2002

		Vandeputte et al., 2007
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	C - X1X2Y	Kitano e Peichel., 2012
<i>Gymnotus carapo</i>	C - XX/XY	Da Silva et al., 2014
<i>Gymnotus coropinae</i>	C - X1X1X2X2	Da Silva et al., 2014
<i>Gymnotus sp. "Negro"</i>	C - XX/XY	Da Silva et al., 2014
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	C	Palaiokostas et al., 2013
<i>Hoplias malabaricus</i>	C - X1X1X2X2/X1X2Y	Cioffi e Bertollo, 2010 Bertollo et al., 1983
<i>Leuresthes tenuis</i>	P → fotoperíodo	Brown et al., 2014
<i>Odontesthes bonariensis</i>	TSD	Yamamoto et al., 2014
<i>Odontesthes hatcheri</i>	C → TDS	Koshimizu et al., 2010
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	C	Yano et al., 2012
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	C - XX/XY	Devlin et al., 1994 Piferrer et al., 1994
<i>Oreochromis aureus</i>	C - WZ/ZZ	Desprez e Mélard, 1998 Desprez et al., 2003
<i>Oreochromis hornorum</i>	C - WZ/ZZ	Lee et al., 2004
<i>Oreochromis karongae</i>	C - WZ/ZZ	Cnaani et al., 2008 Valdivia et al., 2014
<i>Oreochromis niloticus</i>	C - XX/XY → TDS	Lee et al., 2004 Cnaani et al., 2008 Valdivia et al., 2014
<i>Oryzias curvinotus</i>	C - XX/XY	Yamaguchi et al., 2010 Cnaani et al., 2008
<i>Oryzias latipes</i>	C - XX/XY	Tanaka, 1995 Nanda et al., 2002 Hayashi et al., 2010
<i>Oryzias luzonensis</i>	C - XX/XY	Yamaguchi et al., 2010 Cnaani et al., 2008
<i>Paralichthys lethostigma</i>	C - XX/XY → TDS	Luckenbach et al., 2003
<i>Paralichthys olivaceus</i>	C - XX/XY → TDS	Yamaguchi et al., 2010
<i>Poecilia reticulata</i>	C	Kavumpurath e Pandian, 1993 Nanda et al., 1993

<i>Poecilia sphenops</i>	C	Nanda et al., 1993
<i>Pseudobagrus ussuriensis</i>	C - XX / XY	Pan et al., 2015
<i>Oncorhynchus nerka</i>	Genético →TDS	Azuma et al., 2004
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	C - XX / XY	Valdivia et al., 2014
<i>Scophthalmus maximus</i>	C - ZZ/ZW	Martínez et al., 2009 Haffray et al., 2009
<i>Sebastes schlegeli</i>	P→TDS	Ospina-Álvarez e Piferrer, 2008
<i>Tilapia mariae</i>	C - WZ/ZZ	Cnaani et al., 2008 Valdivia et al., 2014
<i>Tilapia zillii</i>	C - XX/XY	Cnaani et al., 2008 Valdivia et al., 2014

C - sistema de determinação sexual cromossômico; P - sistema de determinação sexual poligênico; ESD - sistema de determinação sexual ambiental; (seta) → Influência.

2.1.2 Poligênica

A determinação sexual poligênica ou multifatorial ou ainda multigênica é considerada instável do ponto de vista evolutivo e ocorre quando a decisão quanto à determinação sexual é feita pela combinação de genes alelos, presentes em vários loci que estão ao longo do genoma animal (VANDEPUTTE et al., 2007; LIEW e ORBAN, 2013). Entretanto, em alguns teleósteos, esses alelos podem localizar-se em um único par de cromossomos (LIEW e ORBAN, 2013).

O sistema poligênico pode surgir através de modificações nos cromossomos sexuais que criam um terceiro cromossomo sexual funcional no mesmo locus, ou por modificações no loci autossômico em outras partes do genoma que possibilita novos arranjos da regulação do desenvolvimento gonadal (MOORE e ROBERTS, 2013). Nesse tipo de determinação, ocorre maior variação de genótipos (LIEW e ORBAN, 2013). O mecanismo evolutivo de diferenciação das gônadas do paulistinha citado acima, é compatível com a determinação poligênica (LIEW e ORBAN, 2013; WILSON et al., 2014; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002). O robalo *Dicentrarchus labrax*, é um exemplo de teleósteo com sistema de determinação poligênica, sendo ainda

influenciado pela temperatura (KOUOUNDROUS et al., 2002; VANDEPUTTE et al., 2007).

2.2 Ambiental

2.2.1 Temperatura

Para muitos répteis, peixes e anfíbios a identidade gonadal depende da temperatura experimentada ao início da vida (HATTORI et al., 2009). As espécies que se encontram termo-adaptadas sofrem com as alterações ocasionadas pelas mudanças bruscas de temperatura da água (YAMAMOTO et al., 2014). O contato corporal e metabólico do animal com a água pode desencadear reações diretas e indiretas tornando-se um mecanismo chave para sobrevivência e adaptação das espécies às condições ambientais (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014; RIBEIRO e MOREIRA, 2012). Sabe-se que na natureza acontecem diariamente os ciclos de temperatura da água, com o aquecimento depois de nascer o sol, e resfriamento ao final da tarde, e é de se esperar que os organismos dependentes de efeitos ambientais para determinação sexual sejam adaptáveis, devido a essa variação sazonal natural (BROWN et al., 2014; RIBEIRO e MOREIRA, 2012; OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014). Estudos mostram que mesmo mudanças pequenas de 1 a 2 °C na temperatura da água podem alterar de modo significativo a proporção sexual de 1:1 até 3:1 em espécies de água doce e de águas marinhas (OSPINA-ÁLVAREZ e PIFERRER, 2008).

Assim como o robalo, o medaka recebe interferência de fatores genéticos e ambientais na determinação sexual. Embora apresente o sistema de determinação sexual genético cromossômico XX/XY, foi observado que fêmeas de medaka XX podem ter o sexo revertido para machos fenotípicos em águas com temperatura alta (HAYASHI et al., 2010).

Estudos recentes mais detalhados sobre a masculinização em altas temperaturas foram realizadas com o medaka e o peixe rei *Odontesthes bonariensis* (FERNANDINO et al., 2012; HAYASHI et al., 2010) e correlacionados com altos níveis de cortisol durante a diferenciação sexual gonadal. Este hormônio suprime diretamente a aromatase, levando ao desenvolvimento testicular nestas espécies.

Como o cortisol, principal hormônio resultante do estresse, é o mediador entre a temperatura e a diferenciação sexual no peixe rei, Hattori et al. (2009), sugerem uma possível ligação entre o estresse e a diferenciação testicular nesta espécie. Nesses casos a temperatura é considerada o fator estressante.

O cortisol é um hormônio glucocorticóide presente nos vertebrados relacionado principalmente ao estresse. Em peixes também causa o aumento de 11-cetotestosterona, principal andrógeno bioativo em peixes (FERNANDINO et al., 2012; HATTORI et al., 2009). Diferentes estudos indicam que a temperatura é um determinante ambiental da atividade reprodutiva em peixes, afetando diretamente a fisiologia reprodutiva. Ainda são necessários mais estudos para desvendar exatamente em que momento isso acontece e quais são os fatores que tornam os teleósteos termossensíveis (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; BAROILLER et al., 2001; RIBEIRO e MOREIRA, 2012).

No período de diferenciação sexual do linguado japonês, águas em temperaturas extremas (tanto alta quanto baixa) induzem à produção de machos enquanto que águas de temperaturas intermediárias produzem uma proporção sexual de 1:1 (BAROILLER e D'COTTA, 2001). Portanto, Luckenbach et al. (2009), concluem que os linguados do gênero *Paralichthys* sp. têm o fator temperatura como o único modo de determinação do sexo, visto que tanto baixas como altas temperaturas induzem à masculinização.

Assim como nos exemplos acima, o paulistinha (VILLAMIZAR et al., 2012) e a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (VALDIVIA et al., 2014), embora tenham uma determinação sexual primariamente genética, a mesma pode ainda ser modulada pela temperatura. E larvas geneticamente fêmeas de tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*, variedade supreme, foram masculinizadas quando expostas à temperaturas de 32 e 34°C (ZANONI et al., 2013). Entretanto, vale ressaltar que as temperaturas induzidas no laboratório para esse estudo não são encontradas nas águas naturais abertas.

Vários trabalhos mostram que dentre os fatores ambientais, a temperatura da água é um dos mais importantes por interferir nos fenômenos químicos e biológicos do ambiente aquático, estando ligada diretamente à fisiologia dos peixes (SILVA et al., 2001). A temperatura pode afetar o futuro das populações aquáticas, devido ao

fato dos vertebrados ectotérmicos serem influenciados diretamente pela condição da temperatura da água e de diferentes maneiras, inclusive na proporção sexual da população (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014).

2.2.2 pH

O pH é de fundamental importância para o bem estar animal e para assegurar uma boa produção de peixes. A concentração de bases e ácidos na água determinam o pH e os peixes sobrevivem e crescem melhor em água com pH entre 6 a 9 (SILVA et al., 2001a). Porém o ideal é que o pH fique entre 6,5 e 8,0, pois interfere principalmente em nível branquial, envolvido na regulação iônica e na manutenção do equilíbrio ácido-base dos peixes (FERREIRA et al., 2009; GRAEFF et al., 2007; MURGAS et al., 2012). Melo e colaboradores (2001) consideram que pH entre 6.5 a 8.5 seja a faixa de conforto para juvenis de tambaqui criados em viveiros sem troca de água, enquanto Aride e colaboradores (2007) citam valores entre 6.8 e 7.5. Em jundiá *Rhamdia quelen*, foi verificada a importância do pH para seu desenvolvimento em todas as fases de vida do peixe (BALDISSEROTTO e GOMES, 2005).

Os animais sofrem interferências na fisiologia corporal ocasionadas pelas mudanças do pH do meio (YAMAMOTO et al., 2014). Uma destas interferências é a influência do pH sobre a diferenciação sexual nos peixes, que tem sido investigada em várias espécies de poecilídeos, como por exemplo o espada *Xiphophorus helleri*, o limia blackbelly *Poecilia melanogaster*, em ciclídeos *Apistogramma* spp. e o kribensis *Pelvicachromis pulcher* (RUBIN, 1985; FERNANDINO et al., 2013). Em sua maioria, águas ácidas levam ao surgimento de mais machos e água mais alcalinas ocasionam fêmeas na população, embora o contrário tenha sido observado em molinésia preta *Poecilia sphenops* (BARON et al., 2002).

3 Métodos de sexagem em peixes

Os processos de determinação e diferenciação sexual em peixes compreendem uma área da fisiologia reprodutiva bastante complexa, abordando

muitas questões ainda desconhecidas (COSTA et al., 2013). A identificação do sexo dos peixes, por exemplo, pela sua importância no manejo de reprodutores é o foco de várias pesquisas ao redor do mundo.

3.1 Amplificação de DNA

Marcadores moleculares são ferramentas utilizadas em laboratório de biologia molecular para identificação, caracterização e avaliação de recursos genéticos. Os marcadores genéticos sexo-específicos têm sido isolados e caracterizados com o objetivo de obter a identificação de machos e fêmeas para organismos vegetais e animais (WONG et al., 2005; GASQUES et al., 2014; GALINDO et al., 2011). Empregada em mamíferos e aves há bastante tempo, a sexagem com uso de DNA têm sido recentemente utilizada também em peixes. Os marcadores moleculares específicos do sexo representam um recurso útil para estudar gene determinante do sexo, assim como mecanismos de controle do sexo dos peixes (MCCORMICK et al., 2008; CHEN et al., 2007).

A sexagem através da avaliação do DNA é realizada por métodos diferentes de genética molecular, incluindo RAPD (DNA Polimórfico Amplificado ao Acaso), hibridização e AFLP (Análise Amplificada Polimorfismo de Fragmento; BERED et al., 1997; MCCORMICK et al., 2008).

3.1.1 RAPD

O RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA – polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) é um marcador molecular dominante muito utilizado em estudos moleculares. A técnica consiste em amplificar DNA genômico em PCR (Polymerase Chain Reaction – reação em cadeia da polimerase) utilizando primers com um padrão de sequências curtas e arbitrárias de até 10 nucleotídeos. Os produtos da amplificação podem ser visualizados em gel de agarose ou poliacrilamida em forma de bandas, separadas de acordo com seus tamanhos. É o que permite diferenciar dois ou mais indivíduos com características herdadas geneticamente é exatamente a presença ou ausência das bandas geradas na reação de amplificação. Nos casos em que a espécie possui os cromossomos sexuais XY, por exemplo, o primer iniciador de nucleotídeos, amplifica uma região

homóloga de XY que é sua sequência alvo desconhecida. Ambas as sequências X e Y podem ser amplificadas ao mesmo tempo resultando em fragmentos de comprimentos diferentes. O sexo é identificado pela presença ou ausência de uma banda específica Y ou X (NAKAHORI et al., 1991; FALEIRO, 2007; BERED et al., 1997; MCCORMICK et al., 2008; LACERDA et al., 2002; MARQUES, 2002; HILSDORF e KRIEGER,1998). O RAPD é bastante utilizado em estudos de diversidade de população e para sexagem de plantas ou animais (MARQUES, 2002; KUMAR e GURUSUBRAMANIAN, 2011).

A desvantagem da técnica é apresentar pouca consistência. Por ser um marcador dominante, ele detecta apenas um alelo em cada loco, não detectando heterozigocidade. Outra desvantagem é a baixa repetitividade e reprodutibilidade, por ser muito sensível a mudanças na qualidade do DNA, às condições e aos componentes do PCR (KUMAR e GURUSUBRAMANIAN, 2011). A vantagem da técnica é da obtenção dos resultados de forma rápida com baixo custo e fácil implementação do procedimento, além de não ser necessário o conhecimento prévio da sequência do DNA que se quer estudar (LACERDA et al., 2002; MARQUES, 2002; CASTIGLIONI et al., 2003; KUMAR e GURUSUBRAMANIAN, 2011).

Em trabalhos usando a técnica de amplificação RAPD com a matrinxã *Brycon cephalus*, observou-se a presença de uma banda em gel visualizado em eletroforese com uso de amostras coletivas (pool) e individuais de DNA de fêmea que estavam ausentes em amostras de machos (WONG et al., 2005; SILVA et al., 2012). Desta forma, os autores conseguiram identificar um marcador de DNA associado ao sexo para a matrinxã fazendo uso de RAPD. A análise usando digestão enzimática de DNA revelou um fragmento de RAPD de 535 pb, presente nas fêmeas de matrinxã. Esse método associado a outras técnicas moleculares confirmaram a especificidade deste fragmento a fêmeas desta espécie e revelaram sua ausência em duas outras espécies do gênero, *B. orbignyanus* e *B. lundii* (SILVA et al., 2011).

3.1.2 AFLP

AFLP é uma técnica para estudar polimorfismo genético em populações e tem a vantagem de detectar múltiplos locos por reação além de apresentar alta repetibilidade (HILL et al., 1996).

A análise de sexo do peixe rei da Patagônia *Odontesthes hatcheri* permitiu identificar um marcador de AFLP (ACG / AAC-217) determinante do sexo específico do macho (KOSHIMIZU et al., 2010). Em análise de polimorfismo e para identificação do sexo em *Cynoglossus semilaevis* foram encontrados marcadores AFLP específico de fêmeas (CseF382 e XF305) que após ser recuperado foi amplificado, clonado e sequenciado usando os iniciadores SCAR (CHEN et al., 2007; CHEN et al., 2008). Para a identificação de marcadores AFLP ligados ao sexo na truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, Felip e colaboradores (2005) abordaram impressões digitais de DNA utilizado em AFLP e encontraram amplificação associada ao sexo ligada ao cromossomo Y. No bagre *Pseudobagrus ussuriensis* foi utilizado AFLP para isolar um fragmento de DNA específico do macho com 10.569 pb, que possibilitou identificar o sexo genético nessa espécie (PAN et al., 2015).

3.1.3 Histologia

É definida como sendo a ciência, parte da biologia, que estuda os tecidos. Consiste na visualização das estruturas celulares por microscopia. Para isso, são necessárias coleta e fixação da amostra do tecido para o processo de preparação de uma lâmina, que finalmente é visualizada ao microscópio. O processamento passa pelas etapas de fixação para inibir ou cessar a autólise tecidual, desidratação para retirada da água dos tecidos e diafanização ou clarificação, comumente realizada com xilol. A inclusão (impregnação) é feita na parafina, paraplast ou resina e tem a finalidade de preparar o material para os cortes histológicos. Após montagem dos cortes em lâminas histológicas e coloração, a sexagem pode ser feita através da identificação morfológica das estruturas ovarianas ou testiculares. É um método muito barato, mas trabalhoso, demorado, e implica no sacrifício dos peixes. Embora seja uma técnica bastante antiga, oferece segurança no diagnóstico final (MOORE, 1979).

3.1.4 Vitelogenina

Os animais ovíparos produzem a vitelogenina (Vtg), que compõe o vitelo presente nos oócitos, a partir de estímulos dos hormônios estrogênicos sintetizados pelas fêmeas durante seu ciclo reprodutivo (MARCANTONIO e VIEIRA, 2011). A Vtg

é uma fosfoglicoproteína sintetizada no fígado apenas das fêmeas em maturação. São transportadas na corrente sanguínea durante a fase de vitelogênese para servir como reserva durante a embriogênese e para as larvas após eclosão, antes de começarem a ingerir alimento externo. A vitelogenina tem, portanto, uma relação específica com a puberdade feminina e com o desenvolvimento dos oócitos em peixes sexualmente maduros durante o ciclo reprodutivo nas espécies de desova total e durante todo o ano nas espécies de desova parcelada (MANANOS et al., 1994; RODRIGUEZ et al., 1995; GUÉVEL et al., 2000; NILSEN et al., 2004; CHU-KOO et al., 2009; NUNEZ et al., 2011).

Com a finalidade de verificar o sexo, para algumas espécies de peixes foram desenvolvidos testes que detectam a presença de vitelogenina nas fêmeas. A sexagem é realizada por testes bioquímicos, com base na detecção da vitelogenina a partir do sangue do peixe (CHU-KOO et al., 2009). A identificação sexual do pirarucu através da vitelogenina por teste enzimático foi obtido com sucesso em peixes a partir de três anos de idade e ao longo de todo o ano (CHU-KOO et al., 2009; NUNEZ et al., 2011). Testes enzimáticos quantitativos (ELISA) para Vtg também já foram desenvolvidos para as espécies *Cyprinus carpio*, *Pimephales promelas*, *Danio rerio*, *Solea senegalensis* e *Oryzias latipes* (NILSEN et al., 2004; GUZMAN et al., 2008; CHU-KOO et al., 2009).

3.1.5 Dimorfismo sexual

A presença da gônada masculina ou feminina é considerada como um dimorfismo sexual primário (TURRA et al., 2010). Alguns animais podem ter o sexo identificado através de alguma característica física externa aparente, chamado de dimorfismo sexual secundário (PY-DANIEL e COX FERNANDES, 2005; TURRA et al., 2010). Ainda, a existência dessas características pode ser permanente ou temporária (TURRA et al., 2010).

Entre os peixes, várias espécies são conhecidas por apresentarem características morfológicas que permitem a diferenciação entre indivíduos machos e fêmeas sem a necessidade de observar suas gônadas (CHELLAPA et al., 2003; KULLANDER e FERREIRA, 2006). Uma diferença bastante comum é o tamanho do

corpo que possivelmente ocorre devido a competição entre os machos pelas fêmeas, sendo que os machos maiores levam vantagem em confrontos e são mais atraentes para as fêmeas (GURGEL et al., 2011).

3.1.5.1 Exemplos de espécies com dimorfismo

Várias espécies se diferenciam pelo tamanho do corpo, em algumas sendo a fêmea maior, como ocorre com a corvina *Pachyurus bonariensis* (DUFECH e FIALHO, 2006), em *Aspidoras fuscoguttatus* (ARAUJO e GARUTTI, 2002), *Trichomycterus bahianus* e *Characidium* aff. Zebra (CETRA et al., 2011), *Moenkhausia intermedia* (HOJO et al., 2004), e com *Oligosarcus jenynsii* (FIALHO et al., 1998). E em outras espécies os machos são maiores como no *Cichlasoma orientale* (GURGEL et al., 2011) e no cará *Gymnogeophagus laeustris* (HARTZ et al., 1998).

Outras espécies apresentam uma ou mais variações dimórficas, como o padrão de coloração, modificações nas nadadeiras ou adornos exóticos. Chu-Koo et al. (2009) verificaram dimorfismo sexual de cor nos adultos de pirarucus *Arapaima gigas* no período reprodutivo. O fundulo *Fundulus heteroclitus*, as fêmeas são praticamente despigmentadas e os machos bem coloridos com intensificação na cor azul na época da desova. Outra diferença ocorre nas nadadeiras quanto à forma e resistência, sendo mais prolongadas nos machos, e com uma inflamação e consequente espessamento da nadadeira anal nas fêmeas (NEWMAN, 1907). Em *Hypsolebias antenori*, peixe anual do semiárido que ocorre em poças temporárias, os machos possuem corpo com coloração azul-esverdeado com pontos brancos e a parte ventral mais clara, enquanto que as fêmeas têm o corpo na cor cinza clara, com manchas pretas (NASCIMENTO et al., 2012). O Pira-brasília *Simpsonichthys boitonei* Carvalho, 1959 (Cyprinodontiformes, Rivulidae) o macho é maior e de cor avermelhada com pintas azuis no corpo e nadadeiras e a fêmea é castanha com nadadeiras hialinas (SHIBATTA e GARAVELLO, 1992).

Há ainda as espécies em que machos e fêmeas diferem somente na formação da nadadeira, como *Aphyocharax anisitsi* (GONÇALVES et al., 2001) e *Paedocypris progenetica* (KOTTELAT et al., 2006), ou até mesmo na cabeça, como

no gênero *Cichla* onde os machos adultos e maduros apresentam uma protuberância cefálica pós-occipital formada por gotículas de lipídios que desaparece logo após a liberação dos espermatozoides (CHELLAPA et al., 2003; KULLANDER e FERREIRA, 2006). No popularmente conhecido como “cascudo de espinhos” *Hemiancistrus punctulatus*, os machos não possuem tentáculos, além de serem de tamanho maior que as fêmeas, sugerindo a existência de um comportamento territorialista (HIRSCHMANN et al., 2011). Em peixes elétricos Gymnotiformes, o dimorfismo sexual em algumas espécies é verificado por modulações da descarga do órgão elétrico, conhecido como silvos, que são emitidos durante a corte e nos *Apteronotus leptorhynchus* os machos gorjeiam mais forte do que as fêmeas (DUNLAP et al., 1998).

4 Conclusão

Em se tratando de sistemas de determinação sexual, formas de diferenciação sexual e sexagem em peixes, muito ainda há que ser investigado. Devido à grande variedade e labilidade sexual dos teleósteos, esses estudos devem ser praticamente espécie-específicos, pois existem diferenças mesmo entre espécies da mesma família ou gênero. Muitos são os estudos e grupos de pesquisa focados nessa área, o que pode ser verificado pelo grande número de publicações sobre do assunto. A cada dia novas metodologias e ferramentas de investigação têm sido empregadas nos estudos que envolvem a formação da identidade sexual dos peixes, desvendando cada vez mais esse misterioso campo da fisiologia reprodutiva dos peixes.

5 Referências

- ARAUJO, R. B.; e GARUTTI, V. "Biologia reprodutiva de *Aspidoras fuscoguttatus* (Siluriformes, Callichthyidae) em riacho de cabeceira da bacia do alto rio Paraná." **Iheringia, Série Zoologia**, v. 92.4, 89-98, 2002.
- ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) to water pH. **Aquaculture Research**, 38: 588-594, 2007.

BALDISSEROTTO, B.; e GOMES, L. C. Organizadores; **Espécies Nativas Piscicultura no Brasil**, ed. UFSM, 2005: Santa Maria. P. 175, 184.

BAROILLER J F, D'COTTA H Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, n. 130, v. 4, p. 399-409, 2001. PMID:11738628 [PubMed - indexed for MEDLINE].

BARÓN, B. S.; BÜCKLE, F. R.; ESPINA, S. Environmental factors and sexual differentiation in *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). **Aquaculture Research**, v. 33, 615–619, 2002.

BERED, F.; NETO, F. B.; CRAVALHO, F. I. F. BREEDING, THEIR APPLICATION IN PLANT. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v. 27, n. 2, 1997.

BROWN, E. E.; BAUMANN, H.; CONOVER, D. O. Temperature and photoperiod effects on sex determination in a fish. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 461, p. 39-43, 2014.

CAMARGO, S. G. O.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura – um Mercado em expansão. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005. Pelotas, RS – Brasil.

CASTIGLIONI, L.; BICUDO, H. "A Técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e suas aplicações para estudos em genética molecular." **Revista UNORP**, 3.2, 63-77, 2003. CDD: 639.4098172.

CETRA, M.; RONDINELI, G. R.; SOUZA, U. P. "Compartilhamento de recursos por duas espécies de peixes nectobentônicas de riachos na bacia do rio Cachoeira (BA)." **Biota Neotropical** 11.2 ,87-95, 2011.

CHELLAPA, S.; CÂMARA, M. R.; CHELLAPPA, N. T.; BEVERIDGE, M. C. M.; HUNTINGFORD, F. A. Reproductive ecology of a Neotropical cichlid fish, *Cichla monoculus* (Osteichthyes: Cichlidae). **Brazilian Journal Biology**, 63(1): 17-26, 2003.

CHEN, S. L.; LI, J.; DENG, S. P.; TIAN, Y. S.; WANG, Q. Y.; ZHUANG, Z. M.; XU, J. Y. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). **Marine Biotechnology**, 9(2), 273-280, 2007.

CHEN, W.; e GE, W. Ontogenic expression profiles of gonadotropins (fshb and lhb) and growth hormone (gh) during. **Biology of reproduction.**, v. 86, p.73, 2012.

CHU-KOO, F.; DUGUÉ, R.; AGUILAR, M. A.; DAZA, A. C.; BOCANEGRA, F. A.; VEINTEMILLA, C. C.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J. F.; TELLO, S.; NUNEZ, J.. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. **Fish Physiology and Biochemistry**, 35 (1), pp.125-136, 2009.

CIOFFI, M. B.; BERTOLLO, L. A. C. Initial steps in XY chromosome differentiation in *Hoplias malabaricus* and the origin of an X1X2Y sex chromosome system in this fish group. **Npg, Heredity**, 105, 554–561, 2010. www.nature.com/hdy.

COSTA, R. B.; SALES, R. O.; MAGGIONI, R.; VIDAL, D. L.; FARIAS, J. O. Sexual Definition: is there a pattern in the sexuality of fish? A Revision. **Revista Brasileira Higiene e Sanidade Animal**, v. 07, n. 2, p. 390-415, 2013. ISSN 1981 – 2965. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20130029>.

DEVLIN, R. H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, 208, 191–364, 2002. www.elsevier.com/locate/aqua-online.

DOMENICE, S.; COSTA, E. M. F.; CORRÊA, R. V.; MENDONÇA, B. B. Aspectos Moleculares da Determinação e Diferenciação Sexual. **Brasileira Endocrinologia Metabolismo**, v. 46 n. 4, 2002. A3rq3.

DUFECH, A. P. S.; FIALHO, C. B. "Biologia populacional de *Pachyurus bonariensis* Steindachner, 1879 (Perciformes, Sciaenidae), uma espécie alóctone no sistema hidrográfico da laguna dos patos, Brasil." **Biota Neotropica** 7.1, 105-110, 2007

DUNLAP, K. D.; THOMAS, P.; ZAKON, H. H. "Diversity of sexual dimorphism in electrocommunication signals and its androgen regulation in a genus of electric fish, *Apteronotus*." **Journal of Comparative Physiology**, 183.1, 77-86, 1998.

FALEIRO, F. G. Marcadores genéticos-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 102 p.: il. 2007. ISBN 978-85-7075-035-8.

FELIP, A.; YOUNG, W. P.; WHEELER, P. A.; THORGAARD, G. H. An AFLP-based approach for the identification of sex-linked markers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 247(1), 35-43, 2005.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; ACOSTA, O. D. M.; STRÜSSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. Environmental stress-induced testis differentiation: androgen as a by-product of cortisol inactivation, Review. **General and Comparative Endocrinology**, 192, 36–44, 2013. www.elsevier.com/locate/ygcen.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; KISHII, A.; STRÜSSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. The cortisol and androgen pathways cross talk in high temperature-induced masculinization: the 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase as a key enzyme. **Endocrinology**, v.153, p.6003-6011, 2012.

FERREIRA, E. J. G. **Recursos pesqueiros amazônicos: uma análise conjuntural**. TO MO II. Manaus : INPA, 2009.1 v.(150 p.) ISBN : 978-85-211-0050-8.

FIALHO, C. B.; SCHIFINO, L. C.; VERANI, J. R. "Biologia reprodutiva de *Oligosarcus jenynsii* (Günther)(Characiformes, Characidae) da lagoa das Custódias, Tramandaí,

Rio Grande do Sul, Brasil." **Revista Brasileira Zoologia**, n. 15, v.3, p. 775-782, 1998.

GALINDO, H. M.; LOHER, T.; HAUSER, L. Genetic sex identification and the potential evolution of sex determination in Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*). **Marine Biotechnology**, v. 13, p. 1027–1037, 2011.

GASQUES, L. S.; KEROLY, P. B.; OLIVEIRA, J. R. "Os Marcadores Moleculares em Peixes e suas Aplicações em Publicações da Base de Dados Do Scielo." **Arquivo Ciência Veterinária Zoologia**, UNIPAR 16.1, 2014.

GONÇALVES, T. K.; AZEVEDO, M. A.; FIALHO, C. B.; MALABARBA, L. R. Biologia reprodutiva de *Aphyocharax anisitsi* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Ostariophysi: Characidae). In. Salão de Iniciação Científica, 13 : 2001 : Porto Alegre. Livro de resumos: UFRGS, 2001. Sessão Biodiversidade e Ecologia Animal III. Assunto Ciências biológicas Zoologia. Resumo publicado em evento.

GRAEFF, Á.; TOMAZON, A. F.; PRUNE, E. N.; MARAFON, A. T. Influência da dureza e do ph no desenvolvimento do jundiá (*Rhamdia quelen*) na fase de fertilização até a produção de pós-larvas. REDVET. **Revista Eletronica Veterinária**, v. VIII, n. 9, 2007. ISSN 1695-7504.

GUÉVEL, LE. R.; PETIT, F. G.; LE GOFF, P.; MÉTIVIER, R.; VALOTAIRE, Y.; PAKDEL, F. Inhibition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) estrogen receptor activity by cadmium. **Biology of Reproduction**, 63 (1), 259-266, 2000.

GURGEL, L. L.; VERANI, J. R.; CÂMARA, F. R. A.; BARROS, N. H. C.; CHELLAPA, S. Ecologia reprodutiva de *Cichlasoma orientale* (Osteichthyes: Cichlidae), um peixe endêmico do semi-árido brasileiro. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 1, n. 2, p. 36-44, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v1n2p36-44>.

GUZMAN, A. J. M.; BIRGITTA, N. B.; JESUS, R. A.; CONSTANTINOS, C.; MYLONAS, E. L.; MANANO, S. Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **General and Comparative Endocrinology**, 156, 285–297, 2008.

HARTZ, S. M.; BRUSCHI-JUNIOR, W.; FORMEHL, M. V. Idade e crescimento de *Gymnogeophagus lacustris* Reis & Malabarba, um cichlidae endêmico da Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, n. 15, v. 3, p. 605 - 612, 1998.

HATTORI, R. S.; FERNADINO, J. I.; KISHII, A.; KIMURA, H.; KINNO, T.; Cortisol – Induced masculinization: Does thermal stress affect gonadal fate in Pejerrey, a teleost fish with Temperature-Dependent Sex Determination? **PLoS ONE** 4(8): e6548, 2009.

HAYASHI, Y.; KOBIRA, H.; YAMAGUCHI, T.; SHIRAIISHI, E.; YAZAWA, T.; HIRAI, T.; KAMEI, Y.; KITANO, I. T. Female Medaka by Elevation of Cortisol Japan Molecular. **Reproduction & Development**, 77, 679–686, 2010. WILEY -LISS, INC. DOI 10.1002/mrd.21203 2010 WILEY -LISS, INC www.interscience.wiley.com.

HILL, Kristina E. et al. Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. **The Journal of nutrition**, v. 126, n. 1, p. 138, 1996.

HILSDORF A, KRIEGER J E (1998) *Biologia Molecular Na Conservação De Peixes. Ferramentas moleculares e conservação genética. Biotecnologia ciência & Desenvolvimento*, ano 1, n. 5, 1998.

HIRSCHMANN, A., FIALHO, C. B., e GRILLO, H. C. Z. (2012). "**Reproduction in *Hemiancistrus punctulatus* Cardoso & Malabarba, 1999 (Siluriformes: Loricariidae): a lotic neotropical fish faced with habitat change due to reservoirs.**" **Neotropical Biology and Conservation**, n. 6, v. 3, p. 250-257, 2012.

IJIRI, S.; KANEKO, H.; KOBAYASHI, T.; WANG, D. S.; SAKAI, F.; PAUL-PRASANTH, B.; NAKAMURA, M.; NAGAHAMA, Y. Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Biology Reprod**, v.78, p.333-341, 2008.

KOSHIMIZU, E.; STRÜSSMANN, C. A.; OKAMOTO, N.; et al. **Marine Biotechnology** 12: 8, 2010. doi:10.1007/s10126-009-9194-1.

KOTTELAT, M.; BRITZ, R.; HUI, T. H.; e WITTE, K-E. "*Paedocypris*, a new genus of Southeast Asian cyprinid fish with a remarkable sexual dimorphism, comprises the world's smallest vertebrate." **Biological Sciences**, 273.1589 895-899, 2006.

KOUMOUNDOUROS, G.; PAVLIDIS, M.; ANEZAKI, L.; KOKKARI, C.; STERIOTI, A.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): Critical sensitive ontogenetic phase. **Journal of Experimental Zoology**, v. p 573–579, 2002. DOI: 10.1002/jez.10095.

KULLANDER, S. O.; FERREIRA, E. J. G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyological Exploration Freshwater**, v.17, p. 298-398. 2006.

KUMAR, N. S.; e GURUSUBRAMANIAN. G. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. **Colloquium Science Vision, Sci Vis** 11 (3), 116-124, 2011. MIPOGRASS. ISSN (print) 0975-6175; ISSN (online) 2229-6026.

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; FILHO, J. P. L.; LOVATO, M. B. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas Lundiana. **Instituto de Ciências Biológicas – UFMG** 3(2):87-92, 2002.

LIEW, W. C.; ORBAN, L. Zebrafish sex: a complicated affair. Briefings in Functional Genomics Advance, **Briefings in Functional Genomics**, v. 21, p. 1 – 16, 2013. doi:10.1093/bfgp/elt041.

LUCKENBACH, J. A.; BORSKI, R. J.; DANIELS, H. V.; GODWIN, J. Sex Determination In Flat Fishes: Instruments And Environmental Influences. **Seminars**

in **Cell & Developmental Biology**, 2009. Department of Biology, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695, USA.

MANANOS, E.; NUNEZ, J.; ZANUY, S.; CARRILLO, M.; LE MENN, F. Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. II—Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, 107(2), 217-223, 1994.

MARCANTONIO, A. S.; VIEIRA, E. M. Hormônio feminino pode ser uma ameaça aos peixes. **Apta Regional, Pesquisa & Tecnologia**, vol. 8, n. 2, 2011. ISSN 2316-5146.

MARQUES, D. K. S. Aplicação da biologia molecular em programas de conservação de recursos pesqueiros. Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2002, 22 p. **Documentos**, 36.

MCCORMICK, C. R.; BOS, D. H.; DEWOODY, J. A. Multiple molecular approaches yield no evidence for sex-determining genes in lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, n. 6, p. 643-645, 2008.

MELLO, M. P.; ASSUMPÇÃO, J. G.; HACKEL, C. Genes Envolvidos na Determinação e Diferenciação do Sexo. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabolismo**, v. 49 n. 1, 2005.

MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; RODRIGUES, F. M. Criação de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2001. 30 p. : il. ; 21 cm. – (Embrapa Amazônia Ocidental ; ISSN 1517-3135; 18).

MOORE, E. C.; ROBERTS, R. B. Polygenic sex determination. **Curr Biol**, 23:R510–2, 2013.

MOORE, R. A. Y. M. O. N. D. Natural sex inversion in the giant perch (*Lates calcarifer*). **Marine and Freshwater Research**, 30(6), 803-813, 1979.

MURGAS, L. D. S.; FELIZARDO, V. O.; FERREIRA, M. R.; VERAS, G. C.; ANDRADE, E. S.; JESUS, D. A. Eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. **Ciência Animal**, 22(1), 2012, Palestra - VI Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal, Fortaleza, CE, Brasil, 27 a 29 de junho de 2012. 197.

NAKAHORI, Y.; HAMANO, K.; IWAYA, M.; NAKAGOME, Y. Sex identification by polymerase chain reaction using X-Y homologous primer. **American journal of medical genetics**, 39(4), 472-473, 1991.

NASCIMENTO, W. S.; YAMAMOTO, M. E.; e CHELLAPPA S. "Proporção sexual e relação peso-comprimento do peixe anual *Hypsolebias antenori* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) de poças temporárias da região semiárida do Brasil." **Biota Amazônia**, Macapá, v. 2, n. 1, p. 37-44, 2012.

NEWMAN, H. H. "Spawning behavior and sexual dimorphism in *Fundulus heteroclitus* and allied fish." **The Biological Bulletin** 12.5, 314-348, 1907.

NILSEN, B. M.; BERG, K.; EIDEM, J. K.; KRISTIANSEN, S. I.; BRION, F.; PORCHER, J. M.; GOKSOYR, A. Development of quantitative vitellogenin-ELISAs for fish test species used in endocrine disruptor screening. **Analytical and bioanalytical chemistry**, 378(3), 621-633, 2004.

NUNEZ, R. J.; DUGUÉ, R.; ALVAN-AGUILAR, M.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J-F.; CHAVEZ C.; CHU KOO F. **Avances en el sexaje del paiche o pirarucu**. In : Nunez Rodriguez Jesus (ed.), Chu Koo F. (ed.), Rebelo Porto J. (ed.), Garcia Davila C.R. (ed.) **Biología de las poblaciones de peces amazónicos y piscicultura** : comunicaciones del II workshop international. Marseille (FRA); Manaus (BRA); Lima : IRD ; INPA ; IIAP, 2011, p. 143-149. Coloquio Internacional de la Red de Investigacion Sobre la Ictiofauna Amazonica, 2., Manaus (BRA), 2009/10/28-30. ISBN 9786124607707.

OLIVEIRA, A. K. C.; OLIVEIRA, I. R. S. A influência da temperatura nas histórias de vida de vertebrados. Ensaio; **Revista da Biologia** 12: 8 –15, 2014. DOI: 10.7594/revbio.12.02.02.

OSPINA-ÁLVAREZ, N.; PIFERRER, F. Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited: Prevalence, a Single Sex Ratio Response Pattern, and Possible Effects of Climate Change. **PLoS ONE** 3(7): e2837, 2008. doi:10.1371/journal.pone.0002837. www.plosone.org/doi/pone.0002837.

PAN, Z. J.; LI, X. Y.; ZHOU, F. J.; QIANG, X. G.; GUI, J. F. Identification of Sex-Specific Markers Reveals Male Heterogametic Sex Determination in *Pseudobagrus ussuriensis*. **Marine Biotechnology**, 1-11, 2015.

PENMAN, D. J.; PIFERRER, F. Fish Gonadogenesis. Part I: Genetic and Environmental Mechanisms of Sex Determination. **Reviews in Fisheries Science**, 16, n. 1, 16–34, 2008. ISSN: 1064-1262 print. DOI: 10.1080/10641260802324610.

PY-DANIEL, L. H. R.; e COX- FERNANDES, C. Dimorfismo sexual em Siluriformes e Gymnotiformes (Ostariophysi) da Amazônia. **Acta Amazônia**, v. 35, n.1, pp. 97-110, 2005. ISSN 1809-4392.

REIS, V. R. **Feminização de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) com administração de 17-estradiol na dieta**, 2015, 77. **Dissertação** (mestrado). Universidade Federal do Amazonas – Ufam.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R, G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, v. 8, 2012. ib.usp.br/

RODRIGUEZ, J. N.; OTÉMÉ, Z. J.; HEM, S. Comparative study of vitellogenesis of two African catfish species *Chrysichthys nigrodigitatus* (Claroteidae) and *Heterobranchus ongifilis* (Clariidae). **Aquatic Living Resources**, 8(04), 291-296, 1995.

RUBIN, D. A. **Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid** (Teleostei). *Copeia* 1985, 233–235.

SHIGEHO, I.; KANEKO, H.; KOBAYASHI, T.; WANG, S.; SAKAI, F.; PAUL-PRASANTH, B.; NAKAMURA, M.; NAGAHAMA, Y. Sexual Dimorphic Expression of Genes in Gonads During Early Differentiation of a Teleost Fish, the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. **Biology of Reproduction** 78, 333–341, 2008.

SILVA, E. M. **Isolamento e caracterização de marcadores de DNA associados ao sexo e segmentos de DNA repetitivo em espécies do gênero Brycon (Characidae, Bryconinae)**. Dissertação (mestrado) 2011. 96 f. - Universidade Estadual Paulista, **Instituto de Biociências de Botucatu**, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/92434>>.

SILVA, E. M.; WONG, M. S. L.; MARTINS, C.; WASKO, A. P. Screening and characterization of sex-specific DNA fragments in the freshwater fish matrinhã, *Brycon amazonicus* (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Fish Physiology Biochem.**, 38:1487–1496, 2012. DOI 10.1007/s10695-012-9638-9/

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. R. Qualidade da água na Piscicultura. **Boletim de Extensão da UFLA, Lavras, MG**, n. 94, 2001.

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. R. Qualidade da água na Piscicultura. **Boletim de Extensão da UFLA, Lavras, MG**, n. 94, 2001.

TURRA, E. M.; OLIVEIRA, D. A. A.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; PRADO, A. S.; MELO, D. C.; E SOUZA, A. B. Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 34, p. 21-28, 2010.

VALDIVIA, K.; JOUANNO, E.; VOLFF, J-N.; GALIANA- ARNOUX, D.; GUYOMARD, R. et al. High Temperature Increases the Masculinization Rate of the All-Female (XX) Rainbow Trout “Mal” Population. **PLoS ONE** 9(12): e113355, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0113355.

VANDEPUTTE, M.; DUPONT-NIVET, M.; CHAVANNE, H.; CHATAIN, B. A polygenic hypothesis for sex determination in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Genetics**, v. 176, p. 1049-1057, 2007.

VILLAMIZAR, N.; RIBAS, L.; PIFERRER, F.; VERA, L. M.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F. J. Impact of Daily Thermocycles on Hatching Rhythms, Larval Performance and Sex Differentiation of Zebrafish. **PLoS ONE** 7(12): e52153, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0052153.

WILSON, C. A.; HIGH, S. K.; MCCLUSKEY, B. M.; AMORES, A.; YAN, YI-LIN.; TITUS, T. A.; ANDERSON, J. L.; BATZEL, P.; CARVAN, M. J.; SCHARTL, M.; POSTLETHWAIT, J. H. Wild Sex in Zebrafish: Loss of the Natural Sex Determinant in Domesticated Strains. **Genetics of Sex Genetics**, v. 198, 1291–1308, 2014. DOI: 10.1534/genetics.114.169284.

WONG, M. S. L.; ALVES, F. A.; WASKO, A. P. Identificação de um marcador RAPD associado a fêmeas de *Brycon cephalus* (pisces, bryconinae). Resumos do 51º **Congresso Brasileiro de Genética** • 7 a 10 de set. 2005. Águas de Lindóia, SP, Brasil. www.sbg.org.br. ISBN 85-89109-05-4 229.

YAMAMOTO, Y.; ZHANG, Y.; SARIDA, M.; HATTORI, R. S.; STRUSSMANN, C. A. Coexistence of Genotypic and Temperature-Dependent Sex Determination in Pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **PLoS ONE** 9(7): e102574, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0102574.

ZANONI, M. A.; LEAL, T. V.; FILHO, M. C.; OLIVEIRA, C. A. L.; RIBEIRO, R. P. Inversão sexual de alevinos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) variedade Supreme, submetidos a diferentes temperaturas durante fase de diferenciação sexual. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 455-466, 2013. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n1p455.

Capitulo 3.

**Avaliação da influência da temperatura e do pH na
determinação sexual do tambaqui *Colossoma
macropomum***

Resumo

Devido à importância econômica do tambaqui *Colossoma macropomum*, pesquisadores e produtores têm buscado melhorias na sua produção. Para isso, estudos envolvendo a biologia da espécie buscam informações importantes para fundamentar o desenvolvimento de novas tecnologias de produção. O processo de diferenciação sexual, por exemplo, ainda não foi caracterizado no tambaqui. Visando identificar fatores envolvidos nesse processo, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de dois fatores ambientais, pH e temperatura da água, na determinação sexual do tambaqui. Foram realizados dois experimentos independentes, um para pH (6,5, 7,5 – controle e 8,5) e outro para temperatura (26, 28 – controle e 30 °C), com dois ensaios em cada um. As larvas de tambaqui (12 dpe) foram mantidas nos tratamentos até atingirem 4 cm de comprimento, quando foram transferidas para tanques rede até alcançarem o tamanho de sexagem. Com base na avaliação histológica das gônadas, o tratamento de pH mais ácido produziu mais machos que o tratamento controle. Com o experimento de temperatura o tratamento de 26 °C mostrou-se inviável pela alta mortalidade dos animais e o tratamento de 30 °C não teve influência na formação de machos ou fêmeas na população original de ambos ensaios. O resultado do trabalho sugere que pH mais ácido 6,5 pode influenciar na produção de machos no cultivo de tambaqui. Os dados certamente irão contribuir para o avanço do conhecimento sobre a biologia do desenvolvimento do tambaqui, servindo de apoio a pesquisas mais aplicadas, como em estudos sobre efeitos do aquecimento global, evolutivos, ecologia da espécie e biotecnologia, por exemplo.

Palavras chaves: diferenciação sexual, peixe, aquicultura, sexagem

Abstract

Due to the economic importance of tambaqui *Colossoma macropomum* for the Brazilian aquaculture, researchers and farmers have sought for improvements on its production. Therefore, studies about the biology offer important information that support the development of new farming technologies. The process of sexual differentiation has not been characterized in tambaqui. To identify factors involved in this process of gonad formation, the aim of this study was to evaluate the influence of two environmental factors (pH and temperature) on the sex determination of tambaqui. The factors were controlled in the laboratory to carry out two independent experiments, one for pH (6.5, 7.5 - control and 8.5) and one for temperature (26, 28 - control and 30 °C), with two trials each. Tambaqui larvae (12 dph) were maintained in the treatments until they reached 4 cm total length, when they were transferred to net cages until they reached the size for sex identification. Based on the histologic evaluation of the gonads, the acidic pH treatment produced more males than the control treatment. Regarding the temperature, the treatment 26 °C was not possible to be evaluated by the high mortality of the fish. The treatment of 30 °C had no influence on the determination of male and female in the original population of both trials. The results of the study suggest that the pH 6.5 can influence the production of male tambaqui. The data will certainly contribute to the advancement of knowledge about the developmental biology of tambaqui, supporting applied research, such as studies on effects of global warming, evolution, ecology of the species and biotechnology.

Key words: sexual differentiation, fish, aquaculture, sexing

1 Introdução

A determinação sexual é o mecanismo que estabelece o sexo dos indivíduos de uma espécie, e a diferenciação sexual é o processo morfológico pelo qual uma gônada indiferenciada se desenvolve em ovário ou testículo. Em teleósteos, esses dois processos variam muito de espécie para espécie. Quanto à determinação, o sexo dos peixes pode ser determinado: geneticamente (determinação cromossômica ou poligênica), ou por influência ambiental, quando há interação do genótipo com o ambiente (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; PENMAN e PIFERRER, 2008).

Na determinação sexual genética (GSD), o sexo de cada indivíduo é estabelecido no momento da fertilização (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002). Neste sistema, os genes responsáveis pela formação de ovários e testículos podem estar alocados em um único par de cromossomos, os cromossomos sexuais (determinação cromossômica), ou podem estar espalhados nos autossomos, caracterizando a determinação sexual poligênica ou multigênica. Muitas espécies de peixes apresentam o sistema de determinação sexual cromossômico, como o medaka *Oryzias latipes* e outras espécies do gênero, *O. curvinotus* e *O. luzonensis*, o linguado japonês *Paralichthys olivaceus* (YAMAGUCHI et al., 2010; CNAANI et al., 2008), os salmonídeos (SHIGEHO et al., 2008; WILSON et al., 2014; HAYASHI et al., 2010), as tilápias *Oreochromis niloticus*, *O. karongae*, *Tilapia zillii*, e *T. mariae* (CNAANI et al., 2008; VALDIVIA et al., 2014) e a traíra *Hoplias malabaricus* (CIOFFI e BERTOLLO, 2010).

A determinação sexual poligênica ocorre quando a decisão quanto ao sexo é resultante do efeito da combinação de diferentes genes alelos presentes em vários loci ao longo do genoma animal (VANDEPUTTE et al., 2007; LIEW e ORBAN, 2013). Este sistema pode surgir por meio de modificações nos cromossomos sexuais que criam um terceiro cromossomo sexual funcional no mesmo locus, ou por modificações no loci autossômico em outras partes do genoma formando novos arranjos da regulação do desenvolvimento gonadal, ocasionando maior variação de genótipos (LIEW e ORBAN, 2013; MOORE e ROBERTS, 2013). Alguns peixes possuem esse tipo de determinação, como o paulistinha *Danio rerio* (DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; LIEW e ORBAN, 2013; WILSON et al., 2014;) e o robalo *Dicentrarchus labrax*, que é poligênico com um certo grau de influência ambiental

(KOUMOUNDOUROS et al., 2002; VANDEPUTTE et al., 2007).

A temperatura da água é um fator ambiental determinante para a atividade reprodutiva em peixes, afetando diretamente a fisiologia da reprodução (BAROILLER et al., 2009). Em alguns répteis, anfíbios e peixes, a diferenciação gonadal depende da temperatura em que os indivíduos são expostos ao início da vida (HATTORI et al., 2009). Essas espécies são conhecidas como termo-adaptadas e sofrem com as alterações ocasionadas pelas mudanças bruscas de temperatura da água. Ainda não se sabe exatamente em que momento isso acontece e quais os fatores específicos tornam os teleósteos termossensíveis (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014; NAVARRO-MARTÍN et al., 2011; DEVLIN e NAGAHAMA, 2002; BAROILLER et al., 2001; RIBEIRO e MOREIRA, 2012). Devido ao contato corporal direto do animal com a água, alterações na temperatura desencadeiam reações diretas e indiretas, tornando-se um mecanismo chave para sobrevivência e adaptação das espécies às condições ambientais (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2014; RIBEIRO e MOREIRA, 2012). Mudanças de 1 a 2 °C na temperatura da água pode alterar a proporção sexual de 1:1 para até 3:1 em espécies de águas doce e marinhas (OSPINA-ÁLVAREZ e PIFERRER, 2008). São exemplos clássicos de peixes que podem sofrer a interferência de fatores ambientais na determinação sexual genética: o robalo, o medaka, o linguado japonês do gênero *Paralichthys*, o peixe rei *Odontesthes bonariensis* e outros atherinopsídeos do gênero *Menidia* sp. (VANDEPUTTE et al., 2007; HAYASHI et al., 2010; YAMAMOTO et al., 2014; LUCKENBACH et al., 2009; DUFFY et al., 2010).

A determinação sexual influenciada pela temperatura está relacionada a altos níveis de cortisol durante a diferenciação sexual gonadal. O cortisol é um hormônio glucocorticóide presente nos vertebrados relacionado ao estresse e à regulação iônica (SAKAMOTO e McCORMICK, 2006). Em peixes, o cortisol causa o aumento de 11-cetotestosterone, principal andrógeno bioativo em peixes (FERNANDINO et al., 2012), além de inibir a expressão da aromatase (enzima que converte testosterona em estradiol; HATTORI et al., 2009).

O paulistinha e a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* têm a determinação sexual genética, que pode ainda ser modulada pela temperatura da água (VILLAMIZAR et al., 2012; VALDIVIA et al., 2014), assim como larvas geneticamente fêmeas de

tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*, podem ser masculinizadas quando expostas a altas temperaturas (ZANONI et al., 2013).

Assim como a temperatura, outro fator ambiental com efeito na determinação sexual é o pH da água, por estar diretamente relacionado ao bem estar animal e bom desenvolvimento em todas as fases de vida. Melo et al. (2001) considera que pH entre 6,5 a 8,5 estão na faixa de conforto para juvenis de tambaqui criados em viveiros sem troca de água, e Aride et al. (2007) observa que os valores de pH entre 6,8 e 7,5 mantêm se dentro dos limites aceitáveis para criação de tambaqui, pois não cria condições químicas na água que favoreçam a formação da amônia não ionizada, que é tóxica para muitas espécies. Entretanto pH em nível muito baixo reduz o crescimento e a reprodução dos peixes (LOPES et al., 2001).

Os animais sofrem interferências na fisiologia corporal ocasionadas pelas mudanças do pH do meio (YAMAMOTO et al., 2014). Uma destas interferências é a influência do pH sobre a diferenciação sexual nos peixes, que tem sido investigada em várias espécies de poecilídeos, como por exemplo o espada *Xiphophorus helleri*, o limia blackbelly *Poecilia melanogaster*, o *P. sphenops*, o kribensis *Pelvicachromis pulcher* e em ciclídeos *Apistogramma spp.* (RUBIN, 1985; BARON et al., 2002; FERNANDINO et al., 2013; REDDON e HURD, 2013). Na maioria destas espécies, pHs ácidos e básicos induzem a machos e fêmeas, respectivamente, na população. Naturalmente os peixes suportam uma variação no pH entre levemente alcalino a levemente ácido. Os peixes brasileiros, de modo geral, apresentam sobrevivência de 100% em águas com pHs entre 4,0 e 9,0, mas os que vivem nas águas pretas e ácidas da Amazônia resistem até em pH 3,5 (BALDISSEROTTO, 2014).

O tambaqui *Colossoma macropomum* é um peixe de destaque na piscicultura continental brasileira, sendo a principal espécie nativa cultivada no Brasil (MATOS et al., 2015) com elevado valor de mercado (MENEZES, 2010). Devido a sua importância para a aquicultura nacional, o tambaqui tem sido alvo de diferentes pesquisas nas diversas áreas do conhecimento. Apesar de já existirem estudos sobre a fisiologia da espécie, poucas são as informações existentes acerca da sua fisiologia reprodutiva. A própria ontogenia e desenvolvimento gonadal são informações ainda desconhecidas. O sistema de determinação sexual do tambaqui também não foi identificado, embora estudos preliminares tenham demonstrado a

ausência de cromossomos sexuais na espécie (Foresti, comunicação pessoal). Buscando contribuir com conhecimento sobre qual(is) fator(es) determinam o sexo do tambaqui, o presente trabalho abordou a possível influência de dois fatores ambientais (pH e temperatura) sobre a determinação sexual do tambaqui, visto que não há estudos com essa abordagem para a principal espécie nativa da piscicultura nacional.

2 Material e Métodos

O estudo foi realizado em dois experimentos, um abordando pH e o outro temperatura, cada um com três tratamentos, realizados em dois ensaios diferentes, conforme tabela 1. Em cada ensaio foram utilizadas larvas de diferentes procedências.

Tabela 1. Ensaios com o número de animais por tratamento

Ensaio/Tratamento	Temperatura (°C)			pH		
	26	28	30	6,5	7,5	8,5
1	350	350	350	350	350	350
1	350	350	350	350	350	350

2.1 Animais e condições experimentais

No primeiro ensaio, as larvas de tambaqui foram produzidas no setor de piscicultura do Campo Experimental km 29 da Embrapa Amazônia Ocidental, através de reprodução induzida de duas fêmeas e três machos. Após a fertilização, os ovos foram colocados em incubadoras de 200 L, onde ficaram até dez dias após a eclosão (dpe). Depois desse período, as larvas foram distribuídas aleatoriamente em 06 caixas de água de 310 L (n = 350/caixa), com renovação diária de um terço da água e aeração constante, no Setor de Piscicultura da Embrapa para realização dos experimentos (conforme descrição abaixo). Inicialmente os animais foram alimentados com náuplios de *Artemia salina* até se adaptarem a ração comercial farelada contendo 55 % de proteína bruta.

Para o segundo ensaio foram adquiridas larvas de tambaqui da Estação de Piscicultura de Balbina, localizada no município de Presidente Figueiredo. Este ensaio foi desenvolvido com larvas de outra Estação com o propósito de utilizar animais com genética diferente do primeiro, evitando assim a influência deste fator nos resultados. As larvas (aproximadamente 7 dpe) foram adaptadas à ração comercial e distribuídas como descrito para o primeiro ensaio.

Os parâmetros de qualidade da água foram avaliados quinzenalmente durante todo o período experimental. A dureza (mg/L CaCO₃) foi determinada pelo método titrimétrico do EDTA (APHA, 1992), a alcalinidade (mg/L CaCO₃) por titrimetria com alaranjado de metila (APHA, 1992), e a amônia total pelo método de endofenol (APHA, 1992). Diariamente os valores de pH foram aferidos em cada tanque com auxílio de peagâmetro (YSI Environmental; Modelo 100). As medidas de temperatura (°C) e oxigênio dissolvido (mg/L) foram feitas eletronicamente com oxímetro digital (YSI 550-A).

3 Tratamentos Experimentais

3.1 Experimento 1

Foram realizados três tratamentos com diferentes pHs: 6,5, 7,5 (controle) e 8,5, totalizando três caixas de 250 litros de volume útil, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado. Em cada caixa foram colocadas 350 larvas, que foram mantidas nos tratamentos até os animais atingirem 04 cm de comprimento padrão (CP), quando o tambaqui já diferenciou sexualmente (dados não publicados), esse período experimental variou de 40 a 90 dias. O pH foi aferido três vezes ao dia e ajustado sempre que necessário ou no momento em que era feita a renovação diária da água. Para ajuste do pH foram utilizados hidróxido de sódio a 10 % e ácido clorídrico 10 %, para aumentar ou reduzir o pH, respectivamente.

Três meses após o início do experimento foi montado o segundo ensaio com as mesmas condições de manejo.

3.2 Experimento 2

Foram realizados três tratamentos com diferentes temperaturas: 26, 28 (controle) e 30 °C, totalizando três caixas de 250 litros de volume útil, em delineamento inteiramente casualizado. Em cada caixa foram colocadas 350 larvas, que foram mantidas nos tratamentos até os animais atingirem 04 cm CP. A temperatura foi aferida três vezes ao dia e ajustada sempre que necessário ou no momento em que era feita a renovação diária da água. A temperatura da água foi ajustada e mantida com o uso de aquecedor com termostato. Para garantir a manutenção constante da temperatura de 26 °C, esse tratamento foi desenvolvido em ambiente climatizado.

Três meses após o início do primeiro ensaio foi montado o segundo com as mesmas condições de manejo.

3.3 Coleta e amostragem

Ao atingirem em média 04 cm de comprimento padrão (tamanho em que a diferenciação sexual já ocorreu - dados não publicados) os peixes foram transferidos para tanques-rede para acelerar o crescimento. A coleta para sexagem por histologia foi realizada a partir dos seis meses de idade, quando os animais atingiram o tamanho mínimo de 15,5 cm CP. Foi usada uma amostragem média de 25 animais por tanque rede, em cada ensaio.

Na coleta foi realizada a biometria individual dos peixes e a retirada das gônadas para identificação do sexo. Para a sexagem, as gônadas foram dissecadas e imediatamente imersas em Bouin por 12 horas para posterior processamento histológico. Para melhor visualização e coleta das gônadas, foi adicionado algumas gotas de Bouin na cavidade abdominal com o peixe em decúbito dorsal. Todos os peixes foram previamente anestesiados com Benzocaína (100 mg/mL) antes de serem sacrificados por secção medular.

3.4 Sexagem por processamento histológico

O fragmento gonadal fixado em solução de Bouin foi desidratado em séries crescentes de álcool, clareado com xilol, incluído e emblocado em parafina para

corde transversal em micrótomo na espessura de 5 µm. As secções foram montadas em lâminas histológicas e coradas com hematoxilina e eosina. Finalizado o processo histológico, procedeu a visualização em microscópio óptico para identificação do sexo e quantificação de machos e fêmeas em cada tratamento. O estudo morfológico consistiu em verificar as estruturas dos tecidos, onde foram observadas lamelas ovarianas e/ou a presença de ninhos de oogônias, para as fêmeas. E a presença de espermatogônias e/ou espermatozóides dispostos em cordões testiculares, nos machos. Com base na identificação histológica das gônadas (ovário ou testículo) foi estimada a influência de cada tratamento em comparação com seu grupo controle.

3.5 Análise estatística

O delineamento de cada experimento foi inteiramente casualizado, com três tratamentos/experimento (pH e temperatura) feitos em dois ensaios. Cada peixe foi considerado uma repetição e para cada tratamento foi realizada a sexagem de 4 a 42 animais, com uma média de 24 peixes/tratamento/ensaio. O reduzido número de peixes amostrados nos tratamentos de 26 °C (n = 4) e pH 6,5 (n = 14) ocorreu devido à alta mortalidade dos animais nesses dois grupos. O teste estatístico utilizado foi o Qui-quadrado (χ^2) para avaliar a proporção sexual e comparar com o tratamento controle em cada experimento.

4 Resultados

4.1 Condições Experimentais

As condições de manejo e qualidade da água em todos os tanques de ambos os ensaios foram consideradas adequadas. No entanto as condições de pH 6,5 e temperatura 26°C, apresentaram alta mortalidade (95,7 e 99,3 %, respectivamente, somados ambos ensaios), desde a primeira semana de tratamento.

Os parâmetros médios de qualidade da água durante os experimentos de pH e temperatura nos dois ensaios, expressos em média e \pm desvio padrão, foram: amônia total 0,5 \pm 0,4 mg/L, alcalinidade 20,7 \pm 0,3 mg/L de CaCO₃ e dureza 16,6 \pm

2,9 mg/L de CaCO₃. No experimento de temperatura, o pH médio nos tanques nos dois ensaios foi de 7,2 ± 0,7 e o oxigênio dissolvido de 7,9 ± 1,8 mg/L e no experimento de pH a temperatura média da água em todos os tanques de ambos os ensaios foi de 28 ± 1,3 °C e o oxigênio dissolvido 8,6 ± 1 mg/L (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Parâmetros da qualidade da água (média ± desvio padrão) durante o experimento com pH (amônia mg L⁻¹, dureza e alcalinidade mg L⁻¹ de CaCO₃, temperatura °C e oxigênio mg L⁻¹)

Parâmetro	Ensaio 1			Ensaio 2			Valores médios		
	6,5	7,5	8,5	6,5	7,5	8,5	6,5	7,5	8,5
Amônia	0,3±0	0,5±0,3	0,4±0,1	0,6±0,3	0,8±1	0,4±0,5	0,5±0,3	0,7±0,7	0,4±0,3
Dureza	9±4	4±1	6,5±5	30±0,1	34±0,1	22±0,5	19,5±2	19±0,7	14,2±2,7
Alcalinidade	26,7±7	50,7±16	72±1	16,5±0,1	12,1±1	11,5±1	21,5±3	31,4±4	41,7±1
pH	6,8±0,9	7,5±0,7	8,4±0,8	6,8±0,6	7,5±0,4	8,8±1,2	6,8±0,7	7,5±0,6	8,6±1
Temperatura	28±1,9	28±1,9	28±2,1	28±1	28±1	29±1,4	28±1,4	28±1,4	28,5±0,7
Oxigênio	8,9±1	8,3±1,5	9,4±1,5	7,9±0,9	8,6±1	8,4±0,5	8,4±0,9	8,5±1,3	8,9±1

Tabela 3. Parâmetros da qualidade da água (média ± desvio padrão) durante o experimento com temperatura (amônia mg L⁻¹, dureza e alcalinidade mg L⁻¹ de CaCO₃, temperatura °C e oxigênio mg L⁻¹)

Parâmetro	Ensaio 1			Ensaio 2			Valores médios		
	26	28	30	26	28	30	26	28	30
Amônia	0,8±0,1	0,4±0,1	0,5±0,8	-	1,2±0,8	0,8±0,3	0,8±0,1	1±0,4	0,7±0,5
Dureza	2,5±0,7	8,5±0,7	9,5±2	-	11,1±10	22±14	2,5±0,7	18±4,6	11,7±8
Alcalinidade	22,5±10	16,4±10	10,3±7	-	27±8	19±0,3	22,5±10	13,8±6,5	14,6±3,6
Temperatura	27±1,5	29 ±1,2	30±1,9	-	29±1,2	30,7±0,9	27±1,5	29±1,2	30,3±1,4
pH	7±0,9	7,3±0,8	7,5±5	-	7,3±0,7	7±0,5	7±0,9	7,3±0,7	7,3±2,7
Oxigênio	8,8±3,4	7,4±1,1	7,7±1,1	-	7,6±1,3	7,9±1	8,8±3,4	7,5±1,2	7,8±1

4.2 Sexagem

As fêmeas foram identificadas primariamente pela presença de ninhos de oogônias e pela estrutura de lamelas ovarianas, que é um arranjo estrutural característico de ovário (Fig. 1a). Algumas apresentavam oócitos primários (Fig. 1b).

Os machos identificados apresentaram estrutura de túbulos seminíferos contendo espermatogônias A associadas a células de Sertoli, formando cistos espermatogênicos iniciais, característico de machos imaturos (Fig. 1c). Alguns testículos mais desenvolvidos apresentavam ou cistos de espermatócitos (meiose) e espermatídes (Fig. 1d), além de espermatozoides livres no lúmen (Fig. 1e). Nos tratamentos de temperatura 28 (controle) e 30 °C haviam animais considerados intersexo, ou seja, apresentavam tecido ovariano e testicular na mesma gônada, com células germinativas características de fêmeas e de machos bem evidentes ao longo do tecido (Fig. 1f).

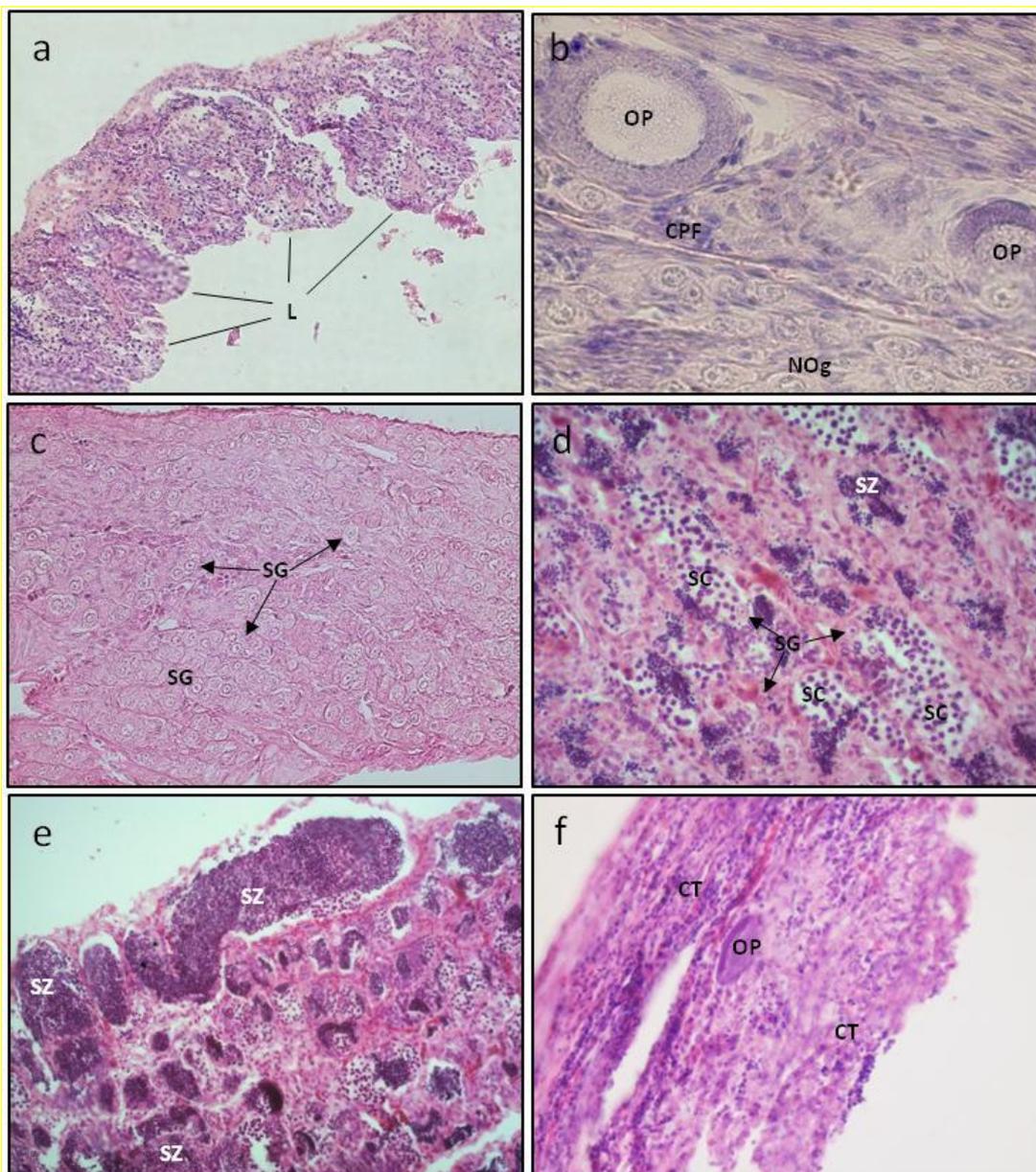


Figura 1. Cortes histológicos de gônadas de tambaqui. a) ovário imaturo com lamelas ovarianas (L) visíveis; b) ovário imaturo com a presença de oócito primário (OP); c) testículo imaturo com espermatogônias (SG) em arranjo de cordões; d) testículo imaturo, com cistos de SG, espermatócitos (SC) e espermatozóides livres (SZ); e) testículo em maturação, com SZ livres nos túbulos seminíferos; f) gônada intersexo, com presença de OP entre cordões testiculares (CT). CPF – célula pré-folicular; NOg – ninho de oogônias.

4.3 Efeito dos tratamentos na proporção de machos e fêmeas

Nos grupos controle de ambos os ensaios houve uma variação na proporção de machos e fêmeas nas populações. No ensaio 1 (pH e temperatura) a proporção foi muito semelhante a 1:1, enquanto que no ensaio 2 (pH e temperatura) a proporção de macho:fêmea foi de 2,3:1. Já dentro de cada ensaio, os controles de pH (7,5) e temperatura (28) não diferiram entre si nos controles do ensaio 1 ($\chi^2 = 3,33$ e $p 0,06$) e nos controles do ensaio 2 ($\chi^2 = 0,19$ e $p 0,66$), demonstrando que os controles foram bem escolhidos. As tabelas 4 e 5 apresentam a porcentagem total de machos, fêmeas e intersexos em cada ensaio.

No experimento de temperatura, devido à grande mortalidade no tratamento de 26 °C, não foi possível realizar o teste estatístico. E não houve diferença significativa entre os grupos controle e de 30 °C ($\chi^2 = 2,3$, $p 0,12$, e $\chi^2 = 2,8$, $p 0,09$ para os ensaios ensaio 1 e 2, respectivamente).

No experimento de pH, embora a taxa de sobrevivência do grupo de pH 6,5 tenha sido baixa, o número de animais restantes e analisados permitiram que todos os grupos fossem avaliados. Nesse experimento, somente o pH ácido (6,5) apresentou diferença em relação ao seu controle, em ambos ensaios ($\chi^2 = 12,54$ e $p 0,0003$, $\chi^2 = 6,87$ e $p 0,00$ para os ensaios 1 e 2, respectivamente). O pH básico (8,5) não apresentou diferença do controle em ambos ensaios ($\chi^2 = 0$ e $p 1$, $\chi^2 = 5,4958$ e $p 0,01906$ para os ensaios 1 e 2, respectivamente).

Tabela 4. Percentual de machos e fêmeas de tambaqui por tratamento de temperatura em cada ensaio

Temperatura	Ensaio 1			Ensaio 2		
	26	28	30	26	28	30
Machos	100	41,7	53,4	-	67,9	84
Fêmeas	-	58,3	45,2	-	25	16
Intersexo	-		2,4	-	7,1	-
n	4	25	44	-	28	25

Tabela 5. Percentual de machos e fêmeas de tambaqui por tratamento de pH em cada ensaio

pH	Ensaio 1			Ensaio 2		
	6,5	7,5	8,5	6,5	7,5	8,5
Machos	80	55,6	56,2	85,7	69,2	52
Fêmeas	20	44,4	43,8	14,3	30,8	48
n	15	27	32	14	26	27

5 Discussão

O presente estudo abordou a possível influência de fatores ambientais na determinação sexual do tambaqui, como parte de um projeto que visa caracterizar todo o processo de diferenciação e desenvolvimento gonadal nessa espécie. Dois experimentos foram realizados abordando temperatura (três tratamentos) e pH (três tratamentos), em dois ensaios cada (cada ensaio com peixes de diferentes procedências).

Estudos sobre a influência de fatores ambientais (temperatura, pH, densidade e interações sociais) sobre a diferenciação sexual de peixes são relativamente recentes (BAROILLER e D'COTTA, 2001). Para algumas espécies de peixes que têm a herança cromossômica do sexo, a determinação do gênero pode ser flexível e influenciada por fatores ambientais, que de alguma forma se sobrepõem à base genética do sexo (COLEMAN, 1998; BAROILLER e D'COTTA, 2001). Pesquisas mostram que a temperatura pode acionar um gatilho para a determinação do sexo, agindo sobre os genes que codificam enzimas esteroidogênicas e receptores de hormônios esteróides sexuais (CREWS, 1996; FERNANDINO et al., 2011; 2009; YAGAMUCHI et al., 2010). Peixes jovens são mais vulneráveis à influência de fatores ambientais (físicas e químicas) podendo afetar o eixo endócrino-endógeno, alterando ou até substituindo o caminho original de desenvolvimento (STRÜSSMANN e NAKAMURA, 2002). Da mesma forma, o pH pode ter um certo grau de influência na formação de ovário e testículos em algumas espécies de

teleósteos, como em alguns poecilídeos e ciclídeos (revisado em FERNANDINO et al., 2013). O tambaqui (*Colossoma macropomum*) representa hoje a principal espécie nativa produzida pela piscicultura continental brasileira, seja na forma de peixes puros ou híbridos. Como reflexo dessa importância, hoje existe um crescente número de estudos científicos abordando aspectos da ecologia, fisiologia e sistemas de produção da espécie.

Em cada ensaio, os tratamentos controles (para pH e temperatura) tiveram a mesma proporção de machos e fêmeas, indicando que não houve alteração do sexo induzida pelo pH controlado (7,5) nem pela temperatura de 28 °C, parâmetros escolhidos como controle. Entretanto, entre os ensaios houve diferença, sendo que as larvas produzidas na Embrapa (periferia de Manaus) teve igual proporção de machos e fêmeas no lote, e a população oriunda de Balbina teve alta percentagem de machos.

No estudo de temperatura, a condição experimental de 26 °C mostrou-se inviável, pois ocorreu uma mortalidade de praticamente 100% das larvas. Muito provavelmente a temperatura de 26 °C esteja abaixo da faixa de conforto para criação de larvas da espécie, uma vez que juvenis e adultos de tambaqui tem seu crescimento ótimo na faixa de 25 a 30°C (IZEL, 1995). A baixa sobrevivência das larvas se assemelha ao observado em jundiá *Rhamdia quelen*, que quando exposto a temperaturas mais baixas no período de incubação apresenta redução no número final de larvas (LONGO e NUÑER, 2010). De qualquer forma, os quatro peixes sobreviventes a essa temperatura eram machos, diferente de outras espécies tropicais aonde baixas temperaturas direcionam a formação de até 100% de fêmeas no lote (STRUUSSMANN et al., 1996; ITO et al., 2005; BAROILLER e D'COTTA, 2001).

Quanto ao tratamento de 30 °C, nos dois ensaios as larvas apresentaram excelente crescimento e desenvolvimento, considerando que esta temperatura está dentro da faixa de conforto descrita por Izel (1995) e por Kubtza (1998), de 28 a 32 °C. Também Sousa e colaboradores (2012) observaram um crescimento elevado e linear para tambaquis expostos a temperaturas de 31 °C da fase larval até juvenil. Apesar de estimular um crescimento mais rápido, a temperatura de 30 °C não teve influência na determinação sexual do tambaqui, não sendo diferente a proporção de

machos e fêmeas nos lotes estudados, em ambos os ensaios, em relação aos seus controles. Nos principais rios amazônicos, os parâmetros físico-químicos da água indicam que a Bacia do Alto rio Madeira possui uma variação na temperatura da água de 29,5 na cheia e 28 °C na seca, e no Rio Mamoré de 28,4 na cheia e 30,5 °C na seca (BERNARDI et al., 2009). A proporção sexual de machos e fêmeas de tambaqui é de aproximadamente 1:1 na Amazônia Central e um pouco maior o número de machos na bacia do rio Mamoré (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999; SANTOS et al., 2006). Por ser uma espécie tropical e portanto termoadaptada, muito provavelmente essa maior porcentagem de machos se deve mais a fatores genéticos do que a uma variação de 1 °C na temperatura da água na época de cheia (período reprodutivo) se compararmos as duas bacias.

Em espécies de determinação sexual ambiental (ESD) como bluegill *Lepomis macrochirus* (WANG et al., 2014), *Menidia menidia* (CONOVER e FLEISHER, 1996), peixe rei *Odontesthes bonariensis* (STRUUSSMANN et al., 1996; ITO et al., 2005) e na truta arco-íris (VALDIVIA et al., 2014) a proporção de machos é significativamente maior em temperaturas elevadas. Já o linguado japonês (gênero *Paralichthys*) abrange os dois extremos pois tanto em águas com temperaturas mais elevadas quanto mais baixas induzem à produção de machos (BAROILLER e D'COTTA, 2001; LUCKENBACH et al., 2009). Entretanto, a temperatura também pode influenciar a determinação sexual de espécies com determinação genética e se sobrepor a ela, como o goldfish *Carassius auratus* (GOTO-KAZETO et al., 2006), o paulistinha *Danio rerio* (VILLAMIZAR et al., 2012), salmão *Oncorhynchus nerka* (AZUMA et al., 2004), robalo (*Dicentrarchus labrax* L.), (PAVLIDIS et al., 2000), medaka *Oryzias latipes* (HAYASHI et al., 2010; SATO et al., 2010) e tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (ZANONI et al., 2013). Nessas espécies, fêmeas genotípicas são masculinizadas fenotipicamente quando os ovos e/ou larvas são incubados em altas temperaturas.

De modo geral, a elevação da temperatura na criação de peixes com determinação sexual dependente da temperatura aumenta a proporção de machos (BAROILLER e D'COTTA, 2001; OSPINA-ALVAREZ e PIFERRER, 2008). Estudos mais detalhados sobre o efeito de altas temperaturas com o medaka e o peixe rei *Odontesthes bonariensis* correlacionam a masculinização com altos níveis de

cortisol durante a diferenciação gonadal. Este hormônio suprime diretamente a aromatase e provavelmente também media a síntese de 11-cetotestosterona, ambas vias levando ao desenvolvimento testicular nestas espécies (HAYASHI et al., 2010; FERNANDINO et al., 2012; WANG et al., 2014). Pelo fato do cortisol ser o mediador entre a temperatura e a diferenciação sexual no peixe rei e estar relacionado ao aumento da atividade metabólica, os autores inferem uma possível ligação entre o estresse (no caso térmico) e a diferenciação testicular nesta espécie (HATTORI et al., 2009).

Animais intersexo foram observados no tratamento 30 °C do primeiro ensaio e no tratamento controle 28 °C do segundo ensaio. O animal é considerado intersexo quando se verifica através da histologia a presença simultânea de tecido gonadal do macho e da fêmea, em espécies gonocóricas, ou seja, não hermafroditas. Entretanto, essa é uma situação muito comum em teleósteos e portanto não a consideramos como resultado de influência da temperatura (BAHAMONDE et al., 2013).

Para o experimento de pH, foram escolhidos um valor ligeiramente ácido, um pH neutro e outro ligeiramente alcalino, mas dentro dos limites de tolerância da espécie, visto que naturalmente os peixes suportam uma variação no pH entre levemente alcalino a levemente ácido. Sendo assim, a faixa de pH utilizada no experimento é considerada adequada para a espécie tambaqui, que tolera valores entre 4,0 e 6,5 (ARIDE et al., 2004; GRAEFF et al., 2007; FERREIRA, 2009).

No tratamento de pH, o valor de 8,5 não apresentou diferença na proporção de machos e fêmeas em relação ao controle (7,5) em nenhum dos ensaios. Já o pH mais ácido estimulou a diferenciação de machos nos dois ensaios. A mesma situação ocorre nas espécies ornamentais espada, no *Poecilia melanogaster*, kribensis *Pelvicachromis pulcher* e *Apistogramma* sp (revisados em FERNANDINO et al., 2013), que apresentam mais machos em águas mais ácidas. Como em ambiente natural as larvas de tambaqui se desenvolvem em águas de pH levemente ácido a levemente alcalinas (águas brancas), não podemos afirmar que essa influência observada em nosso estudo aconteça realmente na natureza, ou seja, que a determinação sexual do tambaqui seja dependente do pH. Até porque o pH 6,5 levou a um alto índice de mortalidade das larvas, não sendo adequado para o

desenvolvimento normal desses peixes durante o período de diferenciação sexual. O fato do pH ácido elevar a mortalidade das larvas indica que houve um estresse muito grande nos lotes que receberam esse tratamento. E como o cortisol é mediador do estresse, além de estar normalmente envolvido na regulação iônica de peixes (SAKAMOTO e McCORMICK, 2006), nós acreditamos que o estresse iônico causou uma elevação nos níveis de cortisol, levando à diferenciação de machos, por vias já estudadas em outras espécies de teleósteos. Assim, suspeitamos que houve um ou mais dos seguintes efeitos do cortisol: i) inibição direta da aromatase, ii) indução da produção de 11-cetotestoestona e iii) indução de apoptose das células germinativas. Todas essas vias levam a diferenciação testicular (HAYASHI et al., 2010; YAGAMUCHI et al., 2010; FERNANDINO et al., 2015).

Esse é o primeiro estudo envolvendo a determinação sexual do tambaqui. De acordo com nossos resultados, a diferenciação sexual do tambaqui parece ser genética (peixes de diferentes procedências têm diferentes relações macho:fêmea nas populações), com certo grau de influência do pH, mas não da temperatura. Águas com pH 6,5 induzem a diferenciação de machos, enquanto que águas neutras e de pH mais alcalino não têm influência na determinação sexual da espécie. Como o pH testado é muito abaixo do encontrado naturalmente nas águas de reprodução do tambaqui, ligeiramente neutro, provavelmente essa influência não tenha relevância em ambiente natural, até porque a sobrevivência é muito baixa nesse ambiente ácido. Nossos dados indicam ainda que muito provavelmente um estresse iônico seja o causador direto dessa masculinização, via produção e liberação de cortisol.

6 Referências

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R. E. e VAL, A. L. Water pH in central Amazon and its importance for tambaqui (*Colossoma macropomum*) culture. **World Aquaculture**, 35: 24-27, 2004.

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) to water pH. **Aquaculture Research**, 38: 588-594, 2007.

AZUMA, T.; TAKEDA, K.; DOI, T.; MUTO, K.; AKUTSU, M.; SAWADA, M.; ADACHI,

S. The influence of temperature on sex determination in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. **Aquaculture**, v. 234, n. 1, p. 461-473, 2004.

BAHAMONDE, P. A.; MUNKITTRICK, K. R.; MARTYNIUK, C. J. Intersex in teleost fish: Are we distinguishing endocrine disruption from natural phenomena? **General and Comparative Endocrinology**, xxx, 2013, xxx–xxx. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.04.005>.

Baldisserotto B, Cyrino JEP, Urbinati EC. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal, SP: Ed. FUNEP, 2014. 336p.

BALDISSEROTTO, B. 2009. **Fisiologia de Peixes de aplicada à piscicultura**. 2 ed. Editora UFSM, Santa Maria, RS.

BALDISSEROTTO, B.; e GOMES, L. C. Organizadores; **Espécies Nativas Piscicultura no Brasil**, ed. UFSM, 2005: Santa Maria. P. 175, 184.

BAROILLER, J. F.; D'COTTA, H.; SAILLANT, E. Environmental Effects on Fish Sex Determination and Differentiation. **Sexual Development**, v. 3, p.118-135, 2009. ISSN: 1661-5425, print. eISSN: 1661-5433, Online.

BAROILLER, J. F.; D'COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, 130(4):399-409, 2001. PMID:11738628 [PubMed - indexed for MEDLINE].

BARÓN, B. S.; BÜCKLE, F. R.; ESPINA, S. Environmental factors and sexual differentiation in *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). **Aquaculture Research**, v.33, p. 615–619, 2002.

BERNARDI, V.E.; LACERDA, L.D.; DÓREA, J. G.; LANDIM, P. M. B.; GOMES, J. P. O.; ALMEIDA, R.; MANZATTO, A.G.; BASTOS, W. R. Aplicação da análise dos componentes principais na ordenação dos parâmetros físico-químicos no Alto Rio Madeira e afluentes, Amazônia Ocidental. **Geochimica Brasiliensis**, 23(1) 079-090, 2009.

CIOFFI, M. B.; BERTOLLO, L. A. C. Initial Steps in XY Chromosome Differentiation in *Hoplias Malabaricus* and The Origin of an X1X2Y Sex Chromosome System in This Fish Group. Departamento de **Genética e Evolução**, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brazil. *Heredity Original Article*, 105, 554–561, 2010. www.nature.com/hdy.

CNAANI, A.; LEE, B. Y.; ZILBERMAN, N.; et al Genetics of sex determination in tilapiine species. **Sexual Development**, v. 2, p. 43–54, 2008.

COLEMAN, R. "Sex determination". **Cichlid Room Companion**, 1998. Retrieved on July 10, 2016, from: <http://www.cichlidae.com/article.php?id=100>.

CONOVER, D. O.; e FLEISHER, M. H. Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 43, n. 3, p. 514-520, 1986.

CREWS, D. Temperature-dependent sex determination: the interplay of steroid hormones and temperature. **Zoological science**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 1996.

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

DUFFY, T. A.; PICHA, M. E.; WON, E.T.; BORSKI, R. J.; MCELROY, A. E.; CONOVER, D. O. Ontogenesis of gonadal aromatase gene expression in Atlantic silverside (*Menidia menidia*) populations with genetic and temperature-dependent sex determination. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, 313, p. 421–431, 2010.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; KISHII, A.; STRÜSSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. The cortisol and androgen pathways cross talk in high temperature-induced masculinization: the 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase as a key enzyme. **Endocrinology**, v.153, p.6003-6011, 2012.

FERNANDINO, J. I.; HATTORI, R. S.; ACOSTA, O. D. M.; STRÜSSMANN, C. A.; SOMOZA, G. M. Environmental stress-induced testis differentiation: androgen as a by-product of cortisol inactivation, Review. **General and Comparative Endocrinology**, 192, 36–44, 2013. www.elsevier.com/locate/ygcen.

GOTO-KAZETO, R.; ABE, Y.; MASAI, K.; YAMAHA, E.; ADACHI, S.; K. YAMAUCHI. Temperature-dependent sex differentiation in goldfish: establishing the temperature-sensitive period and effect of constant and fluctuating water temperatures. **Aquaculture**, v. 254, n. 1, p. 617-624, 2006.

GRAEFF, Á.; TOMAZON, A. F.; NAZARENO, P. E.; TOZZO, M. A. Influência da dureza e do ph no desenvolvimento do jundiá (*Rhamdia quelen*) na fase de fertilização até a produção de pós-larvas. **REDVET. Revista Eletrônica de Veterinária**, v.3, n. 9, 2007. www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090715.pdf. ISSN 1695-7504.

HATTORI, R. S.; FERNANDINO, J. I.; KISHII, A.; KIMURA, H.; KINNO, T. Cortisol-Induced Masculinization: Does Thermal Stress Affect Gonadal Fate in Pejerrey, a Teleost Fish with Temperature-Dependent Sex Determination? **PLoS ONE**, 4(8): e6548, 2009. doi:10.1371/journal.pone.0006548.

HAYASHI, Y.; KOBIRA, H.; YAMAGUCHI, T.; SHIRAISHI, E.; YAZAWA, T.; HIRAI, T.; KITANO, T. High temperature causes masculinization of genetically female medaka by elevation of cortisol. **Molecular reproduction and development**, v. 77, n. 8, p. 679-686, 2010.

ITO, L. S.; YAMASHITA, M.; TAKASHIMA, F.; STRÜSSMANN, C. A. Dynamics and histological characteristics of gonadal sex differentiation in pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) at feminizing and masculinizing temperatures. **Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology**, v. 303, n. 6, p. 504-514, 2005.

IZEL, A. C. U., in. VAL, A.; HONCZARK, A. **TAMBAQUI: Criando peixes na Amazônia**. 19ª Ed. Manaus: INPA, 1995, 160, p. cdd ISBN:85-211-0003-5.

KOUMOUNDOUROS, G.; PAVLIDIS, M.; ANEZAKI, L.; KOKKARI, C.; STERIOTI, A.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): Critical sensitive ontogenetic phase. **Journal of Experimental Zoology**, v. 292, Issue 6, p 573–579, 2002. DOI: 10.1002/jez.10095.

KUBITZA, F. **Qualidade da Água na Produção de Peixes**. Panorama da Aquicultura, 3ª ed. Jundiaí – SP, 1998.

LIEW, W. C.; ORBAN, L. Zebrafish sex: a complicated affair. **Briefings in Functional Genomics**, 21, 1-16, 2013. doi:10.1093/bfpg/elt041.

LONGO, R. S.; e NUÑER, A. P. O. Temperatures for fertilization and hatching and their influence on determining the sex ratio of the silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 32(2): 107-111, 2010.

LOPES, J.; CHAGAS, E.; CRESCENCIO, R.; MORAIS, I.; ALMEIDA, F. Espermatogênese de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criado em cativeiro. Resumo em Anais de Congresso. In: **CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA**, 5, 2012, Palmas. Unir, consolidar e avançar: anais. Palmas: AQUABIO, 2012.

LUCKENBACH, J. A.; BORSKI, R. J.; DANIELS, H. V.; GODWIN, J. Sex determination in flatfishes: mechanisms and environmental influences. In **Seminars in cell & developmental biology**, vol. 20, no. 3, pp. 256-263. Academic Press, 2009.

MATOS, F. T.; MORO, G. V.; BERGAMIN, G. T.; WEBBER, D. C.; PINHO, E. S.; Cage Culture of Tambaqui in the Lagoa Grande Reservoir, Tocantins, Brazil. In: **FENACAM & LACQUA/SARA (WAS)'15**, 2015, Fortaleza, 2015. Anais de Congresso: World Aquaculture Society Meetings.

MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; RODRIGUES, F. M. Criação de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2001. 30 p. – (Embrapa Amazônia Ocidental; ISSN 1517-3135; 18).

MENEZES, A. **Aqüicultura na Prática: peixes, camarões, ostras, mexilhões, sururus**. Espírito Santo. 4ª edição. Ed.UFES, 2010, 142 p.

MOORE, E. C.; ROBERTS, R. B. Polygenic sex determination. **Curr Biol**, 23:R510–2, 2013.

NAVARRO-MARTIN, L.; VINAS, J.; RIBAS, L.; DIAZ, N.; GUTIERREZ, A.; DI CROCE, L.; Piferrer, F. DNA Methylation of the Gonadal Aromatase (*cyp19a*) Promoter Is Involved in Temperature-Dependent Sex Ratio Shifts in the European Sea Bass. **PLoS Genet**, 7(12): e1002447, 2011. Doi:10.1371/journal.pgen.1002447.

OLIVEIRA, A. K. C.; OLIVEIRA, I. R. S. A influência da temperatura nas histórias de vida de vertebrados. **Revista da Biologia**, 12, v. 8 –15, 2014. DOI: 10.7594/revbio.12.02.02.

OSPINA-ÁLVAREZ, N.; PIFERRER, F. Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited: Prevalence, a Single Sex Ratio Response Pattern, and Possible Effects of Climate Change. **PLoS ONE**, 3(7): e2837, 2008.

PAVLIDIS, Michalis et al. Evidence of temperature-dependent sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Journal of Experimental Zoology**, v. 287, n. 3, p. 225-232, 2000.

PENMAN, D. J.; PIFERRER, F. Fish gonadogenesis. Part I: genetic and environmental mechanisms of sex determination. **Reviews in Fisheries Science**, v. 16, p. 16-34, 2008.

REDDON, A. R.; e HURD, P. L. Water pH during early development influences sex ratio and male morph in a West African cichlid fish, *Pelvicachromis pulcher*. **Zoology** (Jena), 116, v. 3, p. 139 – 143, 2013. Doi: 10.1016/j.zool.2012.11.001.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, 8, 2012. ib.usp.br/revista.

RUBIN, D.A. 1985 **Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid (Teleostei)**. *Copeia*, Kansas, 1: 233-235.

SAKAMOTO, T.; MCCORMICK, S. D. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. **General and comparative endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 24-30, 2006.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus** / Geraldo (Ed.). – Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006. p. 144, il. ISBN 85-7300-211-5.

SATO, T.; ENDO, T.; YAMAHIRA, K.; HAMAGUCHI, S.; SAKAIZUMI, M. Induction of female-to-male sex reversal by high temperature treatment in medaka, *Oryzias latipes*. **Zoological science**, v. 22, n. 9, p. 985-988, 2005.

SHIGEHO, I.; KANEKO, H.; KOBAYASHI, T.; WANG, S.; SAKAI, F.; PAUL-PRASANTH, B. NAKAMURA, M.; NAGAHAMA, Y. Sexual Dimorphic Expression of Genes in Gonads During Early Differentiation of a Teleost Fish, the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, 78, 333–341, 2008.

STRÜSSMANN, C. A.; NAKAMURA, M. Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. **Journal, Fish Physiology and Biochemistry**, v. 26, pp 13-29, 2002. DOI 10.1023/A:1023343023556. Print ISSN 0920-1742. Online ISSN 1573-5168.

STRUUSMANN, C. A.; MORIYAMA, S.; HANKE, E. F.; COTA, J. C.; E TAKASHIMA, F. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. **Journal of Fish Biology**, v. 48, n. 4, p. 643-651, 1996. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1996.tb01459.x.

VAL, A. L.; M. N. P. SILVA; V. M. F. ALMEIDA-VAL. "Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task." **South African Journal of Zoology**, 33.2, 107-114, 1998.

VALDIVIA, K.; JOUANNO, E.; VOLFF, J-N.; GALIANA- ARNOUX, D.; GUYOMARD, R. et al.; High Temperature Increases the Masculinization Rate of the All-Female (XX) Rainbow Trout "Mal" Population. **PLoS ONE** 9(12): e113355, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0113355.

VANDEPUTTE, M.; DUPONT-NIVET, M.; CHAVANNE, H.; CHATAIN, B. A Polygenic Hypothesis for Sex Determination in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. **Genetics Society of America**, 2007.

VILLACORTA-CORREA, M. A.; e SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p. 637-652, 1999.

VILLAMIZAR, N.; RIBAS, L.; PIFERRER, F.; VERA, L. M.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F. J. Impact of Daily Thermocycles on Hatching Rhythms, Larval Performance and Sex Differentiation of Zebrafish. **PLoS ONE** 7(12): e52153, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0052153.

WANG, H-P; GAO, Z-X; RAPP, D.; O'BRYANT, P.; YAO, H.; CAO, X-J. Effects of temperature and genotype on sex determination and sexual size dimorphism of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. **Aquaculture**, 420–421, S64–S71, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.010>.

WILSON, C. A.; HIGH, S. K.; MCCLUSKEY, B. M.; AMORES, A.; YAN, YI-LIN.; TITUS, T. A.; ANDERSON, J. L.; BATZEL, P.; CARVAN, M. J.; SCHARTL, M.; POSTLETHWAIT, J. H. Wild Sex in Zebrafish: Loss of the Natural Sex Determinant in Domesticated Strains Highlighted. **Genetics of Sex Genetics**, Vol. 198, 1291–1308, 2014. DOI: 10.1534/genetics.114.169284.

YAMAGUCHI, T.; YOSHINAGA, N.; YAZAWA, T.; GEN, K.; KITANO, T. Cortisol Is Involved in Temperature-Dependent Sex Determination in the *Japanese Flounder*. **Endocrinology** 151:8, 3900-3908, 2010.

YAMAMOTO, Y.; ZHANG, Y.; SARIDA, M.; HATTORI, R. S.; STRUSSMANN, C. A. Coexistence of Genotypic and Temperature-Dependent Sex Determination in Pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **PLoS ONE** 9(7): e102574, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0102574.

ZANONI, M. A.; LEAL, T. V.; FILHO, M. C.; OLIVEIRA, C. A. L.; RIBEIRO, R. P. Inversão sexual de alevinos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) variedade Supreme, submetidos a diferentes temperaturas durante fase de diferenciação sexual. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 455-466, 2013. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n1p455.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O contínuo crescimento da população mundial e a tendência das pessoas em buscar alimentos mais saudáveis, têm feito da aquicultura a atividade agropecuária que mais cresce no planeta (MURGAS et al., 2009; ANDRADE e YASUI, 2003). Embora nosso país e a região Amazônica em especial reúnam características climáticas e hídricas para se tornarem grande produtores de pescado (ANDRADE e YASUI, 2003; FERREIRA, 2009), a contribuição do Brasil na aquicultura mundial ainda é muito pequena. A produção de peixes de água doce no Brasil foi em torno de 400 mil toneladas em 2013, sendo cerca de 72 mil toneladas produzidas na região Norte, e destas, 11 mil toneladas foram de tambaqui produzidos em pisciculturas no Amazonas (IBGE, 2013). Portanto, o tambaqui se destaca como principal espécie nativa produzida na piscicultura do Amazonas, representando a maior parcela da produção estadual.

Embora já se exista o domínio das técnicas de manejo, produção e reprodução, a produção atual de tambaqui é adaptada de outras espécies e pouco tecnificada, deixando espaço para melhorias e desenvolvimento de novas tecnologias espécie-específicas. O próprio aproveitamento de reprodutores ainda está muito aquém do esperado, sendo que cada fêmea e macho atualmente só são utilizados uma vez por período reprodutivo. Também a produção de populações monosexo de fêmeas de tambaqui aumentaria a produtividade por área de cultivo, uma vez que as fêmeas aos 3 kg são mais pesadas que os machos (ALMEIDA et al., 2016) e portanto, com maior produção de carne.

Procurando conhecer a fisiologia reprodutiva da espécie, a formação e desenvolvimento inicial de ovários e testículos de tambaqui, o presente trabalho teve como principal objetivo verificar a possível influência dos principais fatores ambientais na determinação sexual do tambaqui. Esse representa o primeiro estudo envolvendo a determinação sexual do tambaqui, embora outros grupos tenham buscado identificar um possível par de cromossomos sexuais para a espécie (comunicação pessoal).

De acordo com nossos resultados, a diferenciação sexual do tambaqui parece ser genética, pois peixes de diferentes procedências têm diferentes relações

macho:fêmea nas populações, podendo ser de 1:1 até 2,3:1 (macho:fêmea). A temperatura (alta) não apresentou nenhuma influencia na diferenciação, muito provavelmente pelo fato da espécie ser tropical e portanto, termoadaptada a variações consideradas normais de temperatura. Já o pH apresentou uma certa sobreposição de influência sobre os comandos genéticos do sexo dos indivíduos da espécie. O pH ácido levou a diferenciação de mais machos nas duas populações estudadas (*Balbina versus* Manaus). Águas com pH 6,5 induziram a diferenciação de machos, enquanto que águas neutras e de pH mais alcalino não tiveram influência na determinação sexual da espécie. Como o pH testado é muito abaixo do encontrado naturalmente nas águas de reprodução do tambaqui, provavelmente essa influência não tenha relevância em ambiente natural, até porque a sobrevivência é muito baixa nesse ambiente ácido. Nossos dados indicam ainda que muito provavelmente o estresse iônico seja o causador direto dessa masculinização, via produção e liberação de cortisol. O ideal, seria, portanto, numa próxima etapa realizar estudos mais detalhados sobre a possível medição do cortisol nesse processo de indução testicular do tambaqui.

Referências

ALMEIDA, F. L.; LOPES, J. S.; CRESCENCIO, R.; IZEL, A. C. U.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. **Aquaculture**, 452, 224-232, 2016. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 166-172, 2003.

FERREIRA, E. J. G. **Recursos pesqueiros amazônicos: uma análise conjuntural**. TOMO II. Manaus : INPA, 2009. v.1, 150 p. ISBN : 978-85-211-0050-8.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - **Produção da Pecuária Municipal**. Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro 2013, v. 41, p.1-108, 2013 Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão.

MURGAS, L. D. S.; DRUMOND, M. M.; PEREIRA, G. J. M.; FELIZARDO, V. O. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Supl.**, n.6, p.70-76, 2009.