

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em zootecnia

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA NO DESEMPENHO
REPRODUTIVO E DIFERENCIAÇÃO SEXUAL DO PEIXE *BETTA SPLENDENS***

Kenia Conceição de Souza

Belo Horizonte
2019

Kenia Conceição de Souza

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA NO DESEMPENHO
REPRODUTIVO E DIFERENCIAÇÃO SEXUAL DO PEIXE *BETTA SPLENDENS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientadora: Daniela Chemim de Melo Hoyos

Co-Orientador: Matheus Anchieta Ramirez

S729i

Souza, Kenia Conceição, 1988-

Influência da temperatura da água no desempenho reprodutivo e diferenciação sexual do peixe Betta splendens [manuscrito] / Kenia Conceição de Souza. – 2019.

60 f. : il.

Orientador: Daniela Chemim de Melo Hoyos

Coorientadores: Matheus Anchieta Ramirez

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

1. Genética - Teses. 2. Peixe ornamental - Criação - Teses. 3. Reprodução animal - Teses. 4. Sexagem - Teses. I. Hoyos, Daniela Chemim de Melo. II. Ramirez, Matheus Anchieta. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD - 639



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE: (31) - 3409 2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail: cpgzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE KENIA CONCEIÇÃO DE SOUZA

Às 14:00h do dia 18 de fevereiro de 2019, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado na reunião do dia 27/11/2018 para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada.

Influência da temperatura da água no desempenho reprodutivo, diferenciação sexual do peixe *Betta splendens*, como requisito

final para a obtenção do Grau de **Mestre em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.**

Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Profa. Daniela Chemim de Melo Hoyos, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Dissertação, passou a palavra ao candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. (a)/Dr.(a) <u>PEDRO PIERRO MENDONÇA</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a)/Dr.(a) <u>GALILEU CROVATTO VÉRAS</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) <u>Daniela Chemim M. Hoyos</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)

Reprovado (a)

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar 08 volumes encadernados da versão final da dissertação, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da dissertação apresentada para defesa.

Belo Horizonte, de _____ de 2019.

Assinatura dos membros da banca:

Pedro Pierrro Mendonça
Galileu Crovatto Veras
Daniela Chemim

(Normas Regulamentares da defesa de dissertação no verso)
(Este documento não terá validade sem assinatura e carimbo do Coordenador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus a oportunidade de trabalhar com a pesquisa, algo que amo e pela força nos momentos difíceis que passei durante essa trajetória.

Aos meus pais pelo dom da vida e apoio nas horas difíceis. A minha “irmã” pelo apoio e por sempre me incentivar nas minhas conquistas.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram durante a execução deste estudo, não teria conseguido sem tanto auxílio que recebi, graças a Deus.

Ao professor Dr. Ronald Kennedy Luz, pelo auxílio no início do mestrado.

Aos meus orientadores Daniela e Matheus pelo bom exemplo, paciência e dedicação em todos os momentos, disponibilidade e em especial a confiança depositada na realização deste estudo. São os meus mais sinceros respeito e admiração pelo exemplo de profissional e pessoa.

Aos meus colegas de laboratório pela colaboração, apoio e amizade.

Aos produtores de Patrocínio do Muriaé e Muriaé, que possibilitaram meu estágio, do qual originou esse estudo e aos mesmos pela doação dos betas para este experimento.

A esta Universidade Federal de Minas Gerais, por me proporcionar a realização deste sonho e por fim a CAPES pelo apoio financeiro.

“Somos aquilo que acreditamos ser”.
(Autor desconhecido)

Resumo

A espécie de peixe ornamental *Betta splendens* (beta) possui importância econômica para a aquicultura ornamental brasileira. Para animais ectotérmicos, como os peixes, a temperatura da água tem importante influência sobre os processos bioquímicos e fisiológicos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da temperatura da água sobre o desempenho reprodutivo, sobrevivência, desempenho zootécnico nos primeiros 30 dias após eclosão e na diferenciação sexual do peixe *B. splendens*. O delineamento experimental foi de 5 tratamentos (temperaturas da água 26, 28, 30, 32 e 34°C) e quatro repetições. Após o período de adaptação dos reprodutores, de 20 dias, às temperaturas experimentais, os animais foram colocados para acasalar. Após a desova e eclosão dos ovos, as larvas foram mantidas nos aquários onde ocorreram as desovas até o momento em que se realizou a identificação sexual dos animais. Na temperatura de 34°C não foram obtidos nenhum sucesso de desova para a espécie. Não houve diferença significativa na obtenção do número de larvas e no ganho de peso com o aumento da temperatura. A sobrevivência apresentou comportamento quadrático com o aumento da temperatura, assim como o comprimento total, onde houve destaque de desempenho nas temperaturas de 28 e 30°C. Já em relação à quantidade de machos, este foi maior nas temperaturas da água mais altas. A temperatura da água influencia os parâmetros reprodutivos, de desempenho zootécnico e na diferenciação sexual para a espécie *B. splendens*.

Palavras-chave: desova, peixe ornamental, reprodução, sexagem.

Abstract

The *Betta splendens* (beta) ornamental fish species has economic importance for Brazilian ornamental aquaculture. For ectothermal animals, such as fish, water temperature has important influence on biochemical and physiological processes. The objective of the present study was to evaluate the influence of water temperature on reproductive performance, survival, zootechnical performance in the first 30 days after hatching and sexual differentiation of *B. splendens* fish. The experimental design was 5 treatments (water temperatures 26, 28, 30, 32 and 34°C) and four replications. After the period of adaptation of the 20 day breeders to the experimental temperatures, the animals were placed to mate. After spawning and hatching of the eggs, the larvae were kept in the aquariums where the spawning took place until the sexual identification of the animals. At the temperature of 34°C no spawn success was obtained for the species. There was no significant difference in the number of larvae and weight gain with the increase in temperature. Survival presented a quadratic behavior with the increase in temperature, as well as the total length, where performance was highlighted in the temperatures of 28 and 30°C. In relation to the number of males, this was higher in the higher water temperatures. The temperature of the water influences the reproductive, zootechnical performance and sexual differentiation parameters for *B. splendens* species.

Key words: ornamental fish, reproduction, sexing, spawning.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Ponto branco em fêmea de *Betta splendens*.

Figura 2. Características fenotípicas sexuais em machos de *Betta splendens*.

ARTIGO 1: Desempenho do peixe ornamental *Betta splendens* em diferentes temperaturas da água

Figura 3. Porcentagem da sobrevivência das larvas de *Betta splendens* do período de nas temperaturas de 26, 28, 30 e 32°C.

Figura 4- Tamanho das larvas aos 7 dias nas temperaturas 26, 28, 30 e 32°C.

Figura 5- Tamanho das larvas aos 16 dias nas temperaturas 26, 28, 30 e 32°C.

Figura 6- Tamanho das larvas aos 30 dias nas temperaturas 26, 28, 30 e 32°C.

Figura 7- Quantidade de machos obtidos nas temperaturas 26, 28, 30 e 32°C.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO: Desempenho do peixe ornamental *Betta splendens* em diferentes temperaturas da água

Tabela 1. Médias e desvio padrão dos parâmetros de qualidade de água: Temperatura, Potencial hidrogeniônico (pH), Amônia (AM) nos diferentes tratamentos.

Tabela 2. Medianas, médias e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros: mediana (máximos e mínimos) da quantidade inicial – 4 dias após eclosão (QI) e mediana (máximos e mínimos) da porcentagem de sobrevivência do período de 4 a 7 dias após eclosão (PS4/7), médias da porcentagem de sobrevivência do período de 7 a 16 dias após eclosão (PS7/16), médias da porcentagem de sobrevivência do período de 16 a 30 dias após eclosão (PS16/30) E médias da porcentagem de sobrevivência do período de 30 dias após eclosão até a sexagem dos animais (PS30/SEX) para *B. splendens* mantidos nas temperaturas experimentais.

Tabela 3. Médias, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros: Peso inicial (g) (P7), Peso aos 16 dias (g) (P16) e Peso final (g) (PF) no período de 30 dias de avaliação nas temperaturas da água testadas para *B. splendens*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

11 β -hsd	11-beta-hidroxi esteróide desidrogenase - Enzima NADPH-dependente com grau elevado de expressão em tecidos metabólicos chave como o fígado, o tecido adiposo e no sistema nervoso central.
11- KT	11-Cetotestosterona – forma oxidada da testosterona
DDT	Determinação sexual pode ser dependente da temperatura
FSH	Hormônio folículo-estimulante
G+ET	Determinação sexual por meio da interação do tipo genótipo somada ao efeito da temperatura
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
L	Litros
LAQUA	Laboratório de Aquacultura
LH	Hormônio luteinizante
PGC	Células germinativas primordiais
pH	Potencial hidrogeniônico
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

Sumário

LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	11
Resumo.....	7
Abstract	8
INTRODUÇÃO GERAL	14
REVISÃO DE LITERATURA	16
Betta splendens.....	16
Efeito da temperatura sobre a sobrevivência e crescimento em peixes	19
Fatores ambientais e sua influência na reprodução de peixes	22
Influência da temperatura na determinação sexual de peixes teleósteos	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
OBJETIVOS	38
Objetivo geral.....	38
Objetivos específicos.....	38
Resumo.....	39
Abstract	39
1. INTRODUÇÃO	40
2. MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1 Instalações	43
2.2 Aquisição dos reprodutores de Betta splendens e quarentena.....	43
2.3 Delineamento e adaptação às temperaturas experimentais	43
2.4 Manejo reprodutivo	44
2.5 Manejo da prole e biometria.....	45
2.6 Sobrevivência e porcentagem de sobrevivência.....	46
2.7 Sexagem dos animais	46

2.6 Análise estatística.....	47
3. RESULTADOS.....	47
4. DISCUSSÃO	51
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS.....	57

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil se destaca por suas atividades agrícolas. Dentro deste setor produtivo a aquicultura é um importante ramo de produção, onde a produção de peixes ornamentais tem sido um segmento estratégico deste setor. A produção desses animais concentra-se principalmente na Zona da Mata Mineira, região responsável por aproximadamente 70% da produção nacional. Essa localidade é considerada o Polo Nacional de Produção de Peixes Ornamentais (Brasil, 2015).

Segundo estimativas do IBGE (2013) os peixes ornamentais ocuparam o quarto lugar em número de pets adquiridos no país, representando 18 milhões de unidades. Dado significativo, uma vez que o Brasil apresenta a 4ª população mundial de animais de estimação, de acordo com a empresa de pesquisa de mercado Euromonitor (2018). Neste mesmo sentido, segundo SEBRAE (2015), em 2013 o Brasil exportou R\$10.026.664,00 de peixes ornamentais vivos de água doce e em 2017 o país importou US\$78.136,00 desses organismos. O que demonstra o potencial produtivo da aquicultura ornamental. Tal potencial está baseado em espécies nativas e exóticas.

O *Betta splendens* (beta) é considerado uma das espécies de peixes ornamentais de água doce mais produzidas no Brasil. Ele foi apontado como a sétima espécie mais produzida na Zona da Mata Mineira, importante Polo Nacional de Produção de Peixes Ornamentais (Cardoso et al., 2012). Na Tailândia, importante país produtor da espécie, o beta foi considerado o segundo peixe ornamental mais produzido, em termos de número e de receita (Monvises et al., 2009).

Na comercialização deste peixe o macho tem maior valor quando comparado à fêmea, devido às belas nadadeiras, comportamento ativo, diversidade de cores e tamanho corporal (Smith, 2005; Monvises, et al. 2008). Nesse caso, obter uma prole com mais machos é interessante nas pisciculturas, pois essa prática pode contribuir com os ganhos financeiros na produção.

Para a obtenção de linhagens com predominância de um dos sexos no ambiente de cultivo, a manipulação de fatores como temperatura, alimentação, pH e cruzamentos é comumente utilizada (Phelps e Cerezo, 1992; Guerrero III e Guerrero, 1997; Galé et al., 1999; Batista et al., 2013), seja para a manutenção de um melhor desempenho zootécnico ou para a obtenção de um dos sexos que apresente maior valor comercial.

Várias técnicas e tecnologias são utilizadas para aumentar a proporção de machos em relação às fêmeas e uma delas é a utilização de hormônios masculinizantes (Kim, 2007; Batista et al., 2013).

Embora a eficiência da utilização de hormônios masculinizantes para inversão sexual seja comprovada, alguns autores destacam que essas substâncias podem ser prejudiciais ao meio ambiente. Mesmo após os andrógenos serem metabolizados pelo organismo, eles ainda possuem efeito residual de ação (Heitzman 1983; Rico 1983; Phelps e Cerezo, 1992; Guerrero III e Guerrero, 1997; Galé et al., 1999; Lange et al. 2002; Buiarelli et al. 2003). Para a masculinização dos peixes, os hormônios podem ser incorporados à ração ou podem ser utilizados em banhos de imersão. Os danos ao meio ambiente podem ocorrer pela oferta da ração direta nos viveiros, uma vez que parte desses hormônios é diluída diretamente na água. O mesmo risco existe quando se utiliza a masculinização por meio de banhos por imersão, uma vez que a água é descartada no ambiente (Galé et al., 1999).

Além da poluição ambiental, a manipulação desses hormônios representa riscos para quem os manipula. Estes são absorvidos pela pele durante a exposição a que os trabalhadores ficam submetidos (Galé et al., 1999). Contaminações com hormônios sexuais ou seus miméticos em seres humanos, levam a distúrbios hormonais com graves consequências para o desenvolvimento de crianças e adolescentes, além de agravos à população adulta (Alves, 2017; Barbosa e Cury, 2018). O contato com hormônios masculinizantes é prejudicial especialmente para os casos em que a manipulação leve a contaminação cruzada de pessoas do sexo feminino (Machado, 2018).

Outro fator que leva a busca de alternativas ao uso de hormônios masculinizantes é a crescente exigência do mercado consumidor, principalmente em países desenvolvidos, em relação à rejeição do consumo ou aquisição de animais tratados com hormônios (Cerveira e de Castro, 1999; Lusk, et al., 2003).

Uma alternativa ao uso de hormônios é a manipulação de fatores ambientais, por serem comumente apontadas como fatores de interferência do sexo fenotípico em peixes, onde a manipulação destas em sistemas de produção são viáveis. As variações no potencial hidrogeniônico (pH), apontada por vários autores, pode influenciar a diferenciação sexual em diversos peixes teleósteos (Rubin, 1985; Beamish, 1993; Röomer e Beisenherz, 1996; Devin e Nagahama, 2002). Porém, a variável ambiental

que demonstra ter maior influência na diferenciação sexual é a temperatura. Essa tem sido apontada como capaz de sobrepor os determinantes genéticos para a diferenciação sexual em alguns peixes da família dos teleósteos (Conover e Kynard, 1981; Bull, 1983; Schultz, 1993; Baras et al., 2000; Baroiller e D'Cotta, 2000; Wang e Tsai, 2000; Devin e Nagahama, 2002).

Embora a literatura mostre que a temperatura da água influencia a diferenciação sexual em diversas espécies de peixes, apenas um estudo testou sua influência na diferenciação sexual do *B. splendens* (Lucas, 1968), onde não foram encontrados resultados significativos sobre a proporção de machos e fêmeas em duas temperaturas de água, 25,5 e 27,7°C. Também é ausente na literatura, informações sobre a influência deste parâmetro na prolificidade, desenvolvimento na larvicultura e viabilidade da prole em betas.

A temperatura da água também age sobre outras funções do organismo dos animais. Este fator é responsável por alterar o metabolismo dos peixes. Para animais de clima tropical, a redução e elevação da temperatura da água, fora do conforto térmico do animal, leva à redução do consumo de alimento, conseqüentemente reduzindo seu desempenho zootécnico. Além de reduzir o consumo de alimento, o estresse causado pela alteração da temperatura da água, acima ou abaixo da faixa de conforto térmico, pode induzir o acometimento de doenças nos peixes, o que também pode ocasionar mortalidades no plantel.

No geral, os animais aquáticos apresentam uma faixa de tolerância à variação da temperatura, entretanto a faixa de conforto ambiental que proporciona as condições ideais para o crescimento e reprodução é específica (Schmidt-Nielsen, 2002). Por este motivo é importante avaliar em qual temperatura o beta tem melhor desempenho reprodutivo e zootécnico.

REVISÃO DE LITERATURA

Betta splendens

De origem asiática, o *Betta splendens* é popularmente conhecido no Brasil como beta ou peixe de briga e como “Siamese fighting fish” em outros países, devido ao seu comportamento agressivo (Monvises, et al., 2009). Por ter origem em uma região de clima tropical, este peixe adaptou-se muito bem no Brasil, especialmente em regiões

como a Zona da Mata Mineira e o Nordeste do país, que possuem temperaturas médias mais elevadas (Cardoso, et al. 2012). Na região da Zona da Mata Mineira os betas são cultivados em tanques escavados, onde os machos são separados em garrafas plásticas do tipo pet. Os tanques são cobertos por estufas para a manutenção da temperatura da água (Souza, et al. 2018).

Além da fácil adaptação ao ambiente de cultivo, o beta é tido como um animal rústico. Smith (2005), Faria et al. (2006), Santillán (2007) e Monvises, et al. (2009) relataram a adaptação e sobrevivência deste animal em pH da água na faixa de 6,8 a 7,2 e temperaturas da água entre 22°C a 34°C.

Outras características que tornam o beta popular são: a beleza e tamanho de suas nadadeiras, diversidade de cores, brilho e tamanho corporal, comportamento ativo nos aquários, facilidade de manejo e reprodução e sua respiração aérea, característica que permite o cultivo em aquários sem oxigenação (Ratanatham e Patinawin, 1979; Monvises, et al. 2009).

A respiração suplementar aérea é característica principal da família Anabantidae a qual o *B. splendens* pertence. Os peixes dessa família conseguem capturar o oxigênio atmosférico graças à presença de um órgão denominado labirinto (Smith, 2005; Monvises, et al., 2008). Esse órgão possibilita que o beta aproveite tanto o oxigênio diluído na água, quanto o aéreo (Aguire, 1998; Nelson, 2006). Isso permitiu a adaptação do beta em ambientes estáticos, pobres em oxigênio e até mesmo anóxicos (Nelson, 2006), como plantações de arroz (Monvises, et al. 2009). A formação deste órgão ocorre por volta dos 14 ao 28º dia de vida e durante o período de formação do labirinto, as larvas precisam de mais cuidado e em aquários, se faz necessário o fornecimento de oxigênio (Damazio, 1992; Sampaio, 2017).

Este peixe tem hábito alimentar carnívoro, e se adapta facilmente ao manejo alimentar artificial. A boca é voltada para cima, desse modo o beta tende a alimentar-se com maior facilidade na superfície da água, sendo importante o fornecimento de rações extrusadas (Menin, 2006; Nelson, 2006).

Silva (2013) ao realizar estudos sobre a ontogenia do aparelho reprodutivo de betas fêmeas, por meio de microscopia eletrônica de varredura, descreveu que o desenvolvimento gonadal inicia-se por volta do 4º dia após a eclosão dos ovos, com

células germinativas primordiais na cavidade celomática. O aparecimento das gônadas indiferentes surge a partir do 13º dia após a eclosão. A diferenciação em ovários é notada no 20º dia e a vitelogênese foi observada no beta aos 76 dias após eclosão.

A reprodução do beta tem início com aproximadamente 60 a 90 dias de vida. Nesse período, normalmente é possível identificar as características fenotípicas reprodutivas secundárias, com o dimorfismo sexual. A fêmea fica com o abdome abaulado, apresenta o ponto branco entre nadadeiras ventrais (Figura 1) e o poro urogenital mais evidente e listras escuras verticais ao longo do corpo (Silva, 2013). Nos machos é possível observar nadadeiras maiores, corpo mais alongado e delgado e o início da construção de ninhos de bolhas, onde serão depositados os ovos após serem fecundados (Figura 2) (Linke, 1991; Goldstein, 2004).



Figura 1. Ponto branco, identificado com um círculo, em fêmea de *Betta splendens*. Fonte: Peixe Fauna.



Figura 2. Características fenotípicas sexuais em machos: nadadeiras caudais, anais e peitorais mais longas e comportamento reprodutivo: construção do ninho de bolhas do peixe ornamental *Betta splendens*. Fonte: arquivo pessoal.

O *B. splendens* é uma espécie ovípara, de desova parcelada, com ovos em formato ovóide (Giannecchini, 2012) e não possui estação reprodutiva bem definida (Bromage et al., 2001; Tsadik & Bart, 2007; Lubzens et al., 2009). No entanto em um estudo sobre

diferentes fotoperíodos e reprodução deste peixe, Giannecchini (2012) observou maior pico de desova entre o verão e a primavera. O autor descreveu que animais submetidos a fotoperíodos longos de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 12 horas de luz e 12 horas de escuro por dia, apresentaram maior número de desovas e uma maior quantidade de ovos por desova.

Este peixe apresenta cuidado parental, realizado pelo macho. Eles constroem ninhos de bolhas onde serão depositados os ovos após a fecundação (Linke, 1991; Goldstein, 2004). Durante a coorte, o macho conduz a fêmea para baixo do ninho e realiza o abraço nupcial, para auxiliar a fêmea na desova. À medida que ocorre a desova, os ovos são fecundados. Assim que a fêmea acaba de desovar o macho pega os ovos com a boca e leva-os até o ninho de bolhas (Linke, 1991; Goldstein, 2004; Monvise et al., 2009).

Em aproximadamente 20 a 48 horas após a fecundação os ovos eclodem (Monvise et al., 2009), e quatro dias após a fecundação, as larvas começam a nadar horizontalmente, momento em que o macho deve ser retirado do ambiente reprodutivo, para evitar que coma as larvas (Faria et al., 2006). Os betas estão prontos para a comercialização com aproximadamente 4 meses de vida e vivem entre 3 a 5 anos (Linke, 1991; Goldstein, 2004).

Efeito da temperatura sobre a sobrevivência e crescimento em peixes

A temperatura da água pode influenciar alguns indicadores zootécnicos em peixes, devido às alterações que causa no organismo, principalmente pelo fato desses animais serem ectotérmicos (Baroiller et al., 1999). Deste modo a temperatura atua diretamente sobre o metabolismo, fator que afeta o consumo alimentar e de oxigênio (Evans, 2006). O que conseqüentemente pode levar a redução do apetite, perda de peso e mortalidade no plantel.

Na produção de peixes ornamentais o peso, crescimento e sobrevivência dos animais é de suma importância e para que isso ocorra, especialmente em ambiente de produção, é necessário fornecer aos organismos ambiente adequado ao seu desenvolvimento satisfatório. Um dos principais parâmetros utilizados na hora da venda de um peixe ornamental, além da sua coloração e aspecto saudável, é o seu tamanho (Dassie, 2017).

Schmidt-Nielsen (2002) descreveu que a diminuição da temperatura da água, inferior ao ótimo para o organismo, faz com que o consumo de alimento se iguale a taxa metabólica basal do peixe. Isto tem como consequência a diminuição do crescimento, peso e sobrevivência desses organismos (Ham et al., 2003; Imholt et al., 2011; Ostrowski et al., 2011). Por outro lado, a elevação da temperatura, acima da temperatura de conforto para o organismo pode levar a não ingestão ou regurgitação do alimento Wasielesky et al. (1998). Portanto, manter o peixe em temperaturas fora do seu conforto térmico pode levar à prejuízo no ambiente de cultivo.

Para Brett e Groves (1979) e Okamoto (2011) a temperatura da água tem forte atuação sobre o crescimento dos peixes, sendo que cada espécie se desenvolve em faixas de temperatura específicas. Oliveira (2003) relatou que ela pode alterar a atividade alimentar e reprodutiva dos animais, a estrutura corporal, funcional e bioquímica, além de ter interação com outros fatores ambientais. Para peixes tropicais é comumente observável a diminuição do metabolismo com a redução da temperatura, o que leva a uma redução do crescimento, efeito também observado em animais expostos às temperaturas elevadas acima da temperatura de conforto, o que ocorre pelo alto custo energético mediante o aceleração do metabolismo do animal frente ao aumento de temperatura (Árnason et al., 2009).

De acordo com Imsland et al. (1996) nas fases jovens, a aceleração do metabolismo é favorecida pelo aumento da temperatura, estando esta dentro do limite considerado adequado para a espécie, ocorrendo assim um favorecimento do crescimento. Isto ocorre até o limite ótimo, decaindo quando o valor testado aproxima-se do limite de conforto térmico, parâmetro espécie específico. Baldisserotto (2009) afirmou que cada espécie possui uma faixa de tolerância à variação térmica que influencia diretamente na sobrevivência e desenvolvimento. Entretanto, segundo Schmidt-Nielsen (2002), cada animal tem um limite mais restrito de conforto térmico.

Temperaturas fora do intervalo de conforto térmico para a espécie também podem favorecer o adoecimento dos peixes, prejudicando assim sua alimentação e conseqüentemente, peso e crescimento. Figueiredo e Leal (2008) relataram que animais expostos a temperaturas da água fora do seu intervalo de conforto térmico são mais susceptíveis a doenças bacterianas oportunistas, como as causadas por bactérias do

gênero *Aeromonas sp.* Os autores também afirmaram que alterações bruscas na temperatura da água afetam a imunidade desses organismos, expondo-os a bacterioses.

As temperaturas de água mais frias também podem alterar o metabolismo dos peixes. Chen et al. (2002) descreveram que tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em baixas temperaturas tinham níveis elevados de cortisol no sangue, indicativo de estresse. A exposição a situações estressantes pode levar à perda de apetite e em consequência a diminuição do peso e crescimento.

Apontada como um dos principais fatores de regulação do metabolismo dos peixes, a temperatura tem ação direta no aproveitamento dos alimentos, fato determinante para o sucesso comercial nas pisciculturas. Usmani e Jafri (2002) ao avaliarem a digestibilidade de vários nutrientes e da proteína da ração para duas espécies de bagres (*Clarias gariepinus* e *Heteropneustes fossilis*) em duas temperaturas da água, 18 e 28°C, notaram uma melhora significativa na digestibilidade dos peixes na temperatura de 28°C. Em estudo realizado com truta arco-íris, *Onchorhynchus mykiss*, Azevedo, et al. (1998) observou resultados similares aos de Usmani e Jafri (2002) na digestibilidade de nutrientes da ração em temperaturas de 6 e 15°C.

Muitos peixes são considerados euritérmicos, pois conseguem adaptar-se e sobreviver em uma ampla faixa de temperatura (Aoki, et al., 2014). Porém, mesmo animais com essa capacidade podem apresentar alguns distúrbios nas temperaturas limites de sua tolerância. Wasielesky et al. (1998) ao realizarem testes de tolerância da temperatura da água com juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus* constataram que estes animais toleram temperaturas da água entre 10 e 27°C e descreveram que temperaturas próximas dos limites testados provocam a regurgitação do alimento, atrapalham a digestão e podem levar os indivíduos a morte.

Por outro lado, Okamoto (2011) ao trabalhar com juvenis de *P. orbignyanus* em temperaturas da água de 17, 20, 23 e 26°C, observou que animais nas temperaturas entre 23 e 26°C não apresentaram diferença significativa na taxa de crescimento específico diário. A taxa de crescimento específico diário e o peso final foi significativamente maior para os peixes mantidos a 23°C em relação os que foram mantidos na temperatura da água de 17°C.

Arenzon *et al.*, (2002) ao trabalhar em eclosão de ovos em três temperaturas da água, 20, 25°C e ambiente (variação entre 16 e 25°C), do peixe ornamental *Melanotaenia (Cynopoecilus melanotaenia)* descreveram que os ovos eclodiram mais rápido em 25°C, porém todas as larvas apresentaram anormalidades morfológicas, tais como falta de nadadeiras e sinuosidades na coluna.

Medeiros (2013) ao trabalhar com o crescimento de larvas do Peixe-palhaço, (*Amphiprion clarkii*), em duas temperaturas de água, 26 e 30°C não observaram diferença significativa, no crescimento, peso e na sobrevivência das larvas. No entanto o autor observou diferença significativa na taxa de crescimento específico diário e na metamorfose dos animais mantidos a 30°C.

Já Le, et al. (2011) ao trabalharem com a larvicultura do *A. clarkii* nas temperaturas da água 23, 26 e 29°C observaram melhores resultados de sobrevivência em animais cultivados a 26 e 29°C, 60 e 70% respectivamente quando comparado aos animais expostos a 23°C (25%), sendo as temperaturas de 23 e 26°C as que apresentaram melhor crescimento.

Küçük (2010) com o estudo de duas temperaturas da água 25°C e 30°C na criação da Molinésia, *Poecilia velifera*, observou taxa de sobrevivência significativamente maior (55,6%) na temperatura de 25°C.

Dados na literatura sobre a influência da temperatura na reprodução, desempenho e diferenciação sexual de peixes ornamentais são escassos, inclusive para o *B. splendens*, sendo assim, estudos são necessários para melhorar a produção comercial desta espécie.

Fatores ambientais e sua influência na reprodução de peixes

Além dos fatores endógenos, como a determinação sexual cromossômica e a liberação de hormônios, gonadotrofinas e esteroides, na maturação sexual (Bieniarz e Epler, 1992; Nagahama, 1994), a reprodução dos peixes também sofre a influência de diversos fatores exógenos.

Grande parte dos peixes teleósteos exhibe maturação gonadal sazonal, o que indica a influência de fatores ambientais na reprodução. Estes fatores atuam na modulação do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas e acionam o início da puberdade ou primeira

maturação sexual. Dentre estes fatores, tem destaque o fotoperíodo, o pH, a temperatura da água, a oferta de alimentos e a densidade populacional (Almeida, 2013).

O fotoperíodo está relacionado ao tempo de exposição dos animais aos regimes de luz. Essa diferença é percebida por meio de fotorreceptores na retina e incita a fabricação de melatonina pela glândula pineal no período de ausência de luz. Na reprodução o fotoperíodo atua na maturação gonadal, exercendo, através da influência da produção de melatonina, ação sobre a cascata de hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-gônada. Este hormônio age estimulando ou inibindo a síntese de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) no hipotálamo, que por sua vez, regula os hormônios hipofisários, folículo-estimulante (FSH), luteinizante (LH) e os outros hormônios responsáveis pela modulação dos fenômenos reprodutivos e a maturação dos gametas (Amano et al., 2004).

Kissil et al. (2001) observaram um retardo de três meses no desenvolvimento gonadal e desova do *Sparus aurata*, submetidos a ação do fotoperíodo de 15 horas e meia sobre a reprodução. Giannecchini (2012) ao estudar a influência de cinco variações de fotoperíodo na reprodução do *B. splendens*, 8 horas de luz e 16 horas de escuro e 12 horas de luz e 12 horas de escuro, 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 20 horas de luz e 4 horas de escuro e 24 horas de luz e zero horas de escuro, observou frequência de desovas significativamente maior em regimes de fotoperíodos longos, 16 e 12 horas de luz, no entanto ocorreu uma diminuição de 50% desta frequência em fotoperíodos com fornecimento de iluminação acima destes 20 horas luz e 4 horas escuro e 24 horas luz e zero horas escuro. O autor também relatou aumento na fecundidade total e relativa e na produção de ovos com animais submetidos a regimes de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 12 horas de luz e 12 horas de escuro, o que demonstrou a tendência de maior pico reprodutivo deste peixe durante o verão e primavera.

Outro fator ambiental que interfere na reprodução dos peixes é o pH. Rubin (1985) relatou um aumento da proporção de fêmeas, até 90%, em desovas de *Apistogramma caetei* com reprodutores expostos a pH mais básicos (6,5-7,0). Já Röomer e Beisenherz (1996) relataram maior proporção de machos em pH ácido (4,5), em as espécies de *Apistogramma*. Jezierska e Bartnicka (1995) ao avaliarem eclosão de ovos de carpa comum (*Cyprinus carpio*) em pH ácido (4,5-5,5), alcalino (9,0-10,5) e

controle (8,0-8,2) com temperatura da água constante de 20°C, observaram menor fertilização nos ovos submetidos a pH ácido (4,5-5,5) e que em pH básico (9,0-10,5) as larvas apresentaram deformidades.

Em estudo utilizando variações de pH na reprodução do peixe ornamental Kribensis (*Pelvicachromis pulcher*) Rubin (1985) demonstrou que a determinação do sexo neste animal sofre a influência do pH do ambiente, sendo que pHs mais ácidos (4,0-5,5) apresentaram um maior número de machos. Reddon e Hurd (2013) ao testarem dois valores de pH (5,5 e 6,5) na reprodução do *P. pulcher* observaram que os peixes mantidos no tratamento com pH 5,5 apresentaram mais machos do que os peixes do tratamento com pH 6,5.

A temperatura da água é apontada como um dos principais fatores que alteram o metabolismo dos peixes. Ela exerce influência direta na reprodução destes animais por ser capaz de alterar a ação dos hormônios reprodutivos, principalmente os que atuam na ovulação e desova (Prötner, 2002). Maitra et al. (2012) descreveram que alguns peixes, com sensibilidade reprodutiva à temperatura, possuem termo receptores na derme, que ativam a modulação hormonal reprodutiva.

Taranger e Hansen (1993) relataram a inibição da liberação dos espermatozoides e dos ovócitos em salmões (*Salmo salar*) expostos à temperatura acima de 14-16 °C. Estudos realizados com a tenca (*Tinca tinca*) demonstraram lentidão e até ausência de crescimento ovariano em animais submetidos a uma temperatura média diária inferior a 10°C (Breton et al., 1980a). No entanto, mesmo em peixes nos quais prepondera a determinação do sexo através de cromossomos sexuais e autossomos, como em algumas espécies de tilápias (*O. niloticus*), o aumento da temperatura tem atuação expressiva na diferenciação sexual (Baroiller e D'Cotta, 2000).

A temperatura é importante inclusive para animais cuja reprodução é induzida artificialmente, uma vez que ela interfere na maturação das células reprodutivas. Geralmente em temperaturas mais elevadas, em animais de clima sub-tropical e tropical, o tempo de maturação dos gametas é menor. Para avaliar o tempo de indução reprodutiva, é utilizada a medida concomitante da temperatura da água somada com a hora em que foi aplicado o hormônio no reprodutor, indicador denominado horas-grau. Essa prática é utilizada para estimar quando os reprodutores estarão com os gametas

maduros ou próximos a maturação, após a aplicação dos hormônios, indicando assim quando poderão ser extrusados (Zaniboni-Filho; Nuñez, 2004; Sousa e de Castro, 2014).

Influência da temperatura na determinação sexual de peixes teleósteos

No ambiente natural, a temperatura da água exerce influência no período reprodutivo dos peixes concomitantemente com outros fatores abióticos, como o fotoperíodo. A temperatura da água determina a época de desova destes animais, sendo que a maturação de peixes migradores de clima sub-tropical e tropical, ocorre com o final do inverno. O início da elevação da temperatura da água, com o prolongamento do fotoperíodo, aumento da precipitação pluviométrica, dentre outros fatores, desencadeia o desenvolvimento gonadal. Desta forma, a desova acontece entre a primavera e o verão, variando de acordo com a espécie (Naumov, 1956; Ashan, 1966a; De Vlaming, 1972 e 1975; Sundararaj e Vasal, 1976; Breton, et al., 1980ab; Barbieri, et al., 2000; Zaniboni-Filho e Nuñez, 2004; Sousa e de Castro, 2014).

Barbieri, et al. (2000) ao acompanharem o ciclo de desova do dourado (*Salminus maxillosus*) e do curimatá (*Prochilodus lineatus*) no ambiente natural, observaram que ela ocorre entre os meses de novembro a janeiro, com maior incidência no mês de dezembro, e com a maturação gonadal desses animais começando em julho.

Baggerman (1990) e Fraile, et al. (1994) descreveram que a temperatura e o fotoperíodo agem sobre a liberação de hormônios gonadotrópicos (LH e FSH) e sobre a resposta à esses hormônios em seus respectivos órgãos-alvo. Em peixes de clima temperado e tropical o aumento da temperatura desencadeia a maturação gonadal e para espécies que desovam em épocas frias, como os salmonídeos, a maturação das gônadas ocorre no final do verão, quando as temperaturas começam a diminuir (Baldisserotto, 2002).

Strussman e Nakamura (2002) descreveram que, assim como acontece em répteis e anfíbios, há um período lábil em que a temperatura pode influenciar a diferenciação sexual em peixes durante seu desenvolvimento inicial.

Segundo Ospina-Alvarez e Piferrer (2008) a determinação sexual pode ser dependente da temperatura (DDT) ou uma interação do tipo genótipo somada ao efeito da temperatura (G+ET). As espécies que apresentam DDT são as que não apresentam diferenças genéticas consistentes entre os sexos, como os cromossomos heterossomos, e

os animais em que o efeito da temperatura é do tipo genótipo ambiente, onde a temperatura influencia as características fenotípicas nesses animais, mesmo que a determinação sexual seja genética.

Baroiller et al. (1999) e Conover (2004) descreveram três hipóteses sobre a ação desse fator ambiental na alteração da proporção sexual em peixes cuja determinação sexual seja dependente da temperatura: 1) as temperaturas ambientais mais altas favorecem a diferenciação de mais indivíduos machos na população, 2) as temperaturas ambientais mais baixas favorecem a diferenciação de mais indivíduos machos na população 3) as temperaturas extremas (altas e baixas) favorecem a diferenciação de mais indivíduos machos.

No entanto ao trabalharem com várias espécies de peixes Ospina-Alvarez e Piferrer (2008) concluíram que, nas espécies que apresentam DDT, apenas o padrão 1 (as temperaturas ambientais mais altas favorecem a diferenciação de mais indivíduos machos na população) de resposta à temperatura é encontrado, resultando na obtenção de maiores proporções de machos, com uma pequena variação no aumento da temperatura. Esses autores afirmam que nesses peixes é o fator exógeno que induz o início da diferença sexual ontogenética, enquanto que nos peixes que apresentam G+ET, o processo é induzido pelo genótipo do animal.

Luckenbach, et al. (2003) descreveram que a temperatura atua como promotor na maturação gonadal em Solha (*Paralichthys lethostigma*), uma espécie de linguado. Em estudos realizados com o Kinguio (*Carassius auratus*) Kawamura e Otsuka (1950) concluíram que o aumento da temperatura é responsável por induzir o estágio final da maturação gonadal e Ashan (1966b) obteve o mesmo resultado ao expor reprodutores da espécie *Couplius plumbeus* a temperaturas mais elevadas.

Breton, et al. (1980ab) ao testarem três regimes de temperatura na reprodução do peixe Tenca (*T. tinca*), temperatura ambiente; temperatura ambiente + 3°C; temperatura ambiente +6°C, observaram que ocorreu adiantamento do número de desovas em animais submetidos às temperaturas maiores e que as desovas ocorreram em um período significativamente maior de duração. Os autores também relataram que a multiplicação espermática, ovocitária e a meiose sucederam mais precocemente em animais mantidos em temperaturas maiores.

De acordo com Devin e Nagahama (2002) a determinação do sexo em peixes é influenciada por meio da genética do animal e de fatores ambientais. A temperatura pode afetar as duas principais vias da determinação sexual em peixes, que são as células germinativas primordiais (PGC) e a via hormonal.

No que concerne à determinação genética, esta varia de acordo com a espécie do peixe e a formação dos tecidos reprodutivos será direcionada para a diferenciação em ovários ou testículos. Na constituição gonadal de peixes, assim como ocorre em outros vertebrados, há a presença de células germinativas e células somáticas, onde estas associam-se para a formação dos gametas (Devin e Nagahama, 2002). Segundo os mesmos autores, as células germinativas têm a capacidade de divisão mitótica e, através da meiose, darão origem às células gaméticas nas futuras gônadas. Após a sua formação, estas células ficam unidas à região dos tecidos endodérmicos ou saco vitelínico, em algumas espécies, e após transferem-se via mesentério dorso intestinal para a gônada indiferenciada.

Segundo Brusle' e Brusle' (1978a,b) após migrarem para as gônadas indiferenciadas, as PGC possuem características celulares diferenciadas que as distinguem das células somáticas. Além disso, elas atuam em receptores celulares exclusivos nas gônadas. (Parmentier et al., 1984; Parmentier e Timmermans, 1985; Van Winkoop e Timmermans, 1992; Devin e Nagahama, 2002). Diferentemente das células somáticas as PGC são análogas em ambos os sexos antes da diferenciação em células gaméticas. Esse processo só ocorrerá após sofrerem a influência de hormônios e a ação da gônada em desenvolvimento, que determinará se elas darão origem a espermatogônias ou oogônias (Devin e Nagahama, 2002).

Assim como nas PGC, todas as células somáticas indiferenciadas assemelham-se em machos e fêmeas, no entanto, estas procedem da camada externa das gônadas indiferenciadas. Depois que as células germinativas migram para a gônada, elas entram em processo de diferenciação em oogonia ou espermatogonia e ao ocorrer este processo, é desencadeado concomitantemente, o recrutamento migratório e a diferenciação das células somáticas. Estas células atuam no desenvolvimento de estruturas funcionais das gônadas (Miura et al., 1996), como túbulos seminíferos nos testículos (Da Cruz-Huefling e Da Cruz-Landim, 1984). Na formação do ovário as células somáticas e as PGCs começam a se diferenciar para formar folículos ovarianos, que contém oócitos

rodeados internamente por células da granulosa e na parte externa pela camada tecal (Nagahama et al., 1982).

Outro canal apontado como receptores dos estímulos ambientais são os neurônios KiSS-1. Eles atuam na síntese e secreção da kisspeptina em teleósteos (Felip et al., 2009; Tena-Sempere et al., 2012) e esse neuropeptídeo atua como sinalizador da ativação do eixo hipotálamo-hipófise, atuando em receptores próprios em neurônios hipotalâmicos, sintetizadores de hormônios liberadores de gonadotrofinas (GnRH) (Filby et al., 2008; Nocillado e Elizer, 2008). Os neurônios hipotalâmicos ficam na parte anterior do hipotálamo e têm a ação direta sobre a glândula pituitária, atuando em suas células gonadotróficas (Dubois et al., 2002). Ao serem estimuladas, as células produtoras de GnRH entrarão em funcionamento, ativando por sua vez a liberação de FSH e LH que darão início a liberação hormonal dos processos reprodutivos.

Na parte hormonal, a ação da temperatura ocorre devido à sensibilidade que as enzimas precursoras dos hormônios sexuais têm em relação a esse fator. Assim como ocorre na maioria dos vertebrados, a biossintetização dos esteroides sexuais nos peixes é processada por uma complexa cadeia de enzimas (Nagahama, 1994), principalmente as enzimas do complexo *cyp19a* responsáveis pela síntese do citocromo P450 aromatase, comumente conhecida como aromatase, que atua na conversão de andrógenos (testosterona) em estrógenos (estradiol), hormônios sintetizados no cérebro e nas gônadas, que possuem ação direta sobre essas e que desencadeiam o início da diferenciação sexual em peixes (Baroiller e D'Costa, 2001; Devin e Nagahamay, 2002).

A ação da temperatura na cadeia hormonal atua principalmente sobre a aromatase, onde a supressão da expressão dessa enzima pode ocorrer com o aumento da temperatura da água. Por ser o principal conversor de andrógenos em estradiol, quando há a inibição da aromatase, em peixes sensíveis a ação da temperatura, ocorre a masculinização de indivíduos geneticamente fêmeas (Devin e Nagahamay, 2002). Kitano et al. (1999) ao realizarem experimentos de análise hormonal em tilápia (*O. niloticus*) observaram a supressão da aromatase em machos da espécie, o que não ocorreu com as fêmeas.

Segundo Crews (1996) a temperatura de incubação de ovos da Tartaruga de Orelha Vermelha (*Trachemys scripta*) atua como um equivalente fisiológico sobre os hormônios esteroides sexuais, e é responsável pelo direcionamento da determinação do

sexo em masculino e feminino de acordo com sua variação. Este fator age sobre genes codificadores de enzimas esteroidogênicas, bem como sobre os receptores de hormônios esteroides sexuais. Este autor também afirma a hipótese de que os hormônios esteroides e a temperatura atuam na mesma via bioquímica para a determinação do sexo e são fatores sinérgicos.

Alguns hormônios estrogênicos, como o estrona e estriol, tem sua ligação alterada ou anulada em seus receptores com a alteração da temperatura (Sasson e Notides, 1983a, b). O que demonstra a importância deste fator externo no controle da determinação sexual, uma vez que os hormônios esteroides perderão seu efeito direto no organismo, caso não haja receptores específicos para detectá-los (Crews, 1996).

Crews et al. (1996a) ao testar o efeito de hormônios que não sofrem a ação da aromatase, como a diidrotestosterona, na masculinização da Tartaruga de Orelha Vermelha (*T. scripta*), afirmaram que, para que haja seu efeito, é necessário que estes sejam administrados na janela de tempo em que a diferenciação sexual seja sensível à temperatura (Wibbels e Crews, 1995; Crews et al., 1996a).

O cortisol também é apontado como responsável por influenciar diretamente a diferenciação sexual em algumas espécies cuja determinação sexual depende da temperatura. O cortisol é um glicocorticoide produzido em resposta ao estresse que o organismo esteja exposto. Hattori et al. (2009) e Hayashi et al. (2010) descreveram que o aumento de níveis plasmáticos de cortisol, que ocorre em temperaturas elevadas, é responsável por induzir a obtenção de populações 100% machos em algumas espécies por suprimir a expressão gênica da *cyp19a*, o que por sua vez, bloqueia a síntese da aromatase, suprimindo assim, a síntese de estradiol. Já Fernandino et al. (2012) relataram que a elevação do cortisol no organismo dos peixes leva à expressão da 11-beta-hidroxi esteróide desidrogenase (11 β -hsd), enzima que atua na biossíntese da 11-Cetotestosterona (11- KT) através da oxigenação da testosterona. A 11- KT é tida como o principal andrógeno nestes animais e é responsável pela ativação de receptores que desencadeiam o processo de masculinização em peixes.

Embora haja diversos estudos demonstrando a eficiência da temperatura na masculinização de teleósteos e de ter um estudo sobre a influência da temperatura na obtenção de machos para o *B. splendens*, ainda não há na literatura relatos sobre testes com várias temperaturas da água para a espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 174-180, 2013.
- ALVES, G. Apesar de riscos, testosterona em gel ganha espaço em academias. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2017/06/1892436-apesar-de-riscos-testosterona-em-gel-ganha-espaco-em-academias.shtml>>. Data de acesso: 25/01/2019.
- AMANO, M. Y. T.; YAMADA, H. O. K.; YAMAMORI, K. Effects of photoperiod on gonadotropinreleasing hormone levels in the brain and pituitary of underyearling male barfin flounder. **Fisheries Science**, v.70, p.812- 818. 2004.
- ARENZON, A.; LEMOS, C. A.; BOHRER, M. B. C. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Brazilian Journal of Biology** 62(4B): 743-747. 2002.
- ÁRNASON, T.; BJÖRNSSON, B.; STEINARSSON, A.; ODDGEIRSSON, M. Effects of temperature and body weight on growth rate and feed conversion ratio in turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**. 295:218–225. 2009.
- ASHAN, S. N., Effects of temperature on the cyclical changes in the spermatogenic activity of the lake chub *Couesius plumbeus*. **Canadian Journal of Zoology**, 44, 161-171. 1966b.
- ASHAN, S. N. Cyclical changes in the testicular activity of the Lake Chub, *Clouesius plumbeus* (Agassiz). **Canadian Journal of Zoology**, 44: 149-171. 1966a.
- AZEVEDO, P. A.; CHO, C. Y.; LEESON, S.; BUREAU, D. P. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Living Resources**, 11(4), 227-238. 1998.
- BAGGERMAN, B.; STICKLEBACKS, A. C.; IN MUNRO, A. D.; SCOTT, A. P. E.; LAM, T. J. Reproductive seasonality in Teleosts: Environmental Influences. Boca Raton, Florida: CRC Press. 1990.
- BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. Santa Maria: UFSM. 2002.
- BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 212 p.
- BARBIERI, G.; SALLES, F. A.; CESTAROLLI, M. A. Influência de fatores abióticos na reprodução do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimbatá, *Prochilodus lineatus* do rio Mogi Guaçu (Cachoeira de Emas, Pirassununga/SP). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 12, n. 2, p. 85-91, 2000.
- BARBOSA, J. A. B. A.; CURY, J. Androgen replacement therapy in men: current evidence and controversy. **Revista de Medicina**, 97(3), 295-300, 2018.

- BAROILLER, J. F.; D’COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, A, S10. 2000.
- BAROILLER, J. F.; D’COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**. C 130: 399-409. 2001.
- BAROILLER, J. F.; GUIGEN, Y.; FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 55: 910–931. 1999.
- BATISTA, E. B.; MOREIRA, L. S.; ASSIS, G. C.; BEZERRA, A. J. M. Reversão sexual de betas para pequenos produtores. Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar – VI MICTI- Instituto Federal Catarinense – Campus Camboriú. 2013.
- BIENIARZ, K., EPLER, P. Advances in reproductive endocrinology of fish. **Journal of Physiology and Pharmacology**. 43, 215– 222. 1992.
- BUIARELLI, F.; CARTONI, G. P.; COCCIOLI, F.; DE ROSSI, A.; NERI, B. Determination of Trenbolone and Its Metabolite in Bovine Fluids by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography B**. 784(1):1-15. 2003.
- BRASIL. PROJETO DE LEI N. 22.111, DE 2015 (do Senado Federal) PLS N. 921/15. Institui o Polo de Excelência em Piscicultura Ornamental na região da Zona da Mata. Diário do Congresso Nacional, Brasília, Seção I, 4 abr. 2015.
- BRETON, B.; HOROSZEWICZ, L.; BILLARD, R.; BIENIARZ, K. Temperature and reproduction in tench: effect of a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning. I. The male. **Reproduction nutrition development**, 20 (1A), 105-118. 1980b.
- BRETON, B.; HOROSZEWICZ, L.; BILLARD, R.; BIENARIZ, K. Temperature and reproduction in tench: Effect a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning II. In. the female. **Reproduction Nutrition Development** 20, 1011-1024. 1980a.
- BRETT, J. R.; GROVES, T. D. D. Physiological energetic, in: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (Eds.). **Fish physiology**, vol. 8. Academic Press, New York, 1979. p. 280-352.
- BROMAGE, N. P. M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 63-98, 2001.
- BRUSLE’, S., BRUSLE’, J. An ultrastructural study of early germ cells in Mugil (Liza) auratus Risso, 1810 (Teleostei: Mugilidae). **Annual Biology Animal Biochimica Biophys**, 1141– 1153. 1978a.
- BRUSLE’, S., BRUSLE’, J. Early sex differentiation in Mugil (Liza) auratus Risso, 1810 (Teleost Mugilidae). An ultrastructural study. **Annual Biology Animal Biochimica Biophys**. 18, 871– 875. 1978b.

- CARDOSO, R. S.; LANA, A. M. Q.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; FARIA, P. M. C. Caracterização Socioeconômica da Aquicultura Ornamental na Região da Zona da Mata Mineira. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 89 – 96, 2012.
- CERVEIRA, R.; DE CASTRO, M. C. Consumidores de produtos orgânicos da cidade de São Paulo: características de um padrão de consumo. *Informações econômicas-governo do estado de São Paulo instituto de economia agrícola*, v. 29, n. 12, p. 7-20, 1999.
- CHEN, W. H.; SUN, L. T.; TSAI, C. L.; SONG, Y. L.; CHANG, C. F. Cold-stress induced the emodulation of catecholaminas, cortisol, immunoglobulin M, and leukocyte phagocytosis in tilapia. **General Endocrinology**, v. 126, p. 90-100, 2002.
- CREWS, D. Temperature-dependent sex determination: the interplay of steroid hormones and temperature. **Zoological Science**. 13, 1 – 13. 1996.
- AOKI, P. C. M.; HELMER, J. L.; CASTRO, J.; BARROSO, M. Tolerância térmica de juvenis do robalo peba *Centropomus parallelus* Poey, 1860 (Pisces: Centropomidae) em água doce. Imagem marcado/desmarcado simposio brasileiro de aquicultura-simbraq, 11.; encontro sulbrasileiro de aquicultura, 4.; encontro catarinense de aquicultura, 5.; festival nacional da ostra e da cultura acoriana-fenaostra, 2., 2000, Florianopolis, SC. **Anais-aquicultura Brasil 2000**. Florianopolis: EPAGRI; Associacao Brasileira de Aquicultura, 2000. 2014.
- DA CRUZ-HUEFLING, M.; DA CRUZ-LANDIM, C. Ultrastructural and histochemical studies on the Leydig and Sertoli cell homologues in the testis of *Triportheus elongatus* (Sardinhao) and *Mylossoma aureum* (Pacu). **Cytobios** 41, 161–174. 1984.
- DAMAZIO, A. Criando o Betta. 2 ed. Rio de Janeiro: **Inter-Revistas**, 1992. 80p.
- Dassie, C. MG concentra o principal polo de criação de peixe ornamental do Brasil. Disponível em: <<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/globo-rural/noticia/2017/06/mg-concentra-o-principal-polo-de-criacao-de-peixe-ornamental-do-brasil.html>>. Data de acesso: 30/01/2019.
- DE VLAMING, V. L. Environmental control of teleost reproductive cycles: a brief review. **Journal of Fish Biology**, 4: 131-140. 1972.
- DE VLAMING, V. L. Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost *Notemigonus crysolucas*. **Biology bulletin.**, 148: 402-415. 1975.
- DEVIN, 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.
- DO BRASIL, GOVERNO. Métodos para obtenção de população monosexo na piscicultura. **Boletim Agropecuário**, v. 69, p. 1-27, 2004.
- DUBOIS, E. A.; ZANDBERGEN, M. A.; PEUTE, J.; GOOS, H. J. T. Evolutionary development of three gonadotropin-releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. **Brain Research Bulletin**, v.57, p.413-418, 2002.
- EUROMONITOR, 2018. Euromonitor Internacional Limited. Acessado em:<<https://www.euromonitor.com/brazil>>. Acesso em 16/04/2018.

EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B. The Physiology of Fishes. Editors 3rd ed. CRC Press: Boca Raton. 2006. 601p.

FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens*. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.30, p.134-149, 2006.

FELIP, A.; ZANUY, S.; CARRILLO, M.; GÓMEZ, A. Evidence for two distinct KiSS genes in non-placental vertebrates that encode kisspeptins with different gonadotropin-releasing activities in fish and mammals. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.312, p.61-71, 2009.

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.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(SPE), 8-14. 2008.

FILBY, A. L.; VAN AERLE, R.; DUITMAN, J.; TYLER, C. R. The kisspeptin/gonadotropin-releasing hormone pathway and molecular signaling of puberty in fish. **Biology of Reproduction**, v.78, p.278-289, 2008.

FRAILE, B.; SÁEZ, F. J.; VICENTINI, C. A.; GONZÁLES, A.; DE MIGUEL, M. P.; PANIAGUA, R. Effects of temperature and photoperiod on the *Gambusia affinis holbrooki* testis during the spermatogenesis period. *Copeia* 1,216–221. 1994.

GIANNECCHINI, L. G.; MASSAGO, H.; FERNANDES, J. B. K. Effects of photoperiod on reproduction of Siamese fighting fish *Betta splendens*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 821-826, 2012.

GOLDSTEIN, R. J. The Betta Handbook, Barron's Educational Series Inc., New York. 2004.

GUERRERO III, R.D.; GUERRERO, L. A. Effects of Androstenedione and methyltestosterone on *Oreochromis niloticus* fry treated for sex reversal in outdoor Net Enclosure. In: International Symposium on tilapia in aquaculture, 4., 1997, Orlando. **Proceedings**. v.12, n. 1, 1997, p.772-777. 1997.

HAM, E. H. V.; BERNTSEN, M. H. G.; IMSLAND, A. PARPOURA, K. A. C.; BONGA S. E. W.; STEFANSSON, S. O. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture** 217: 547–558. 2003.

HATTORI, R. S.; FERNANDINO, J. I.; KISHII, A.; KIMURA, H.; KINNO, T.; OURA, M.; SOMOZA, G. M.; YOKOTA, M.; STRUSSMAN, C. A.; WATANABE, S. Cortisol-induced masculinization: does thermal stress affect gonadal fate in pejerrey, a teleost fish with temperature-dependent sex determination? **Plos One**, v. 4, p. e. 6548, 2009.

HAYASHI, Y.; KOBIRA, H.; YAGAMUCHI, T.; SHIRAIISHI, E.; YAZAWA, T.; HIRAI, T.; KAMEI, Y.; KITANO, T. High temperature causes masculinization of

genetically female medaka by elevation of cortisol. **Molecular Reproduction and Development**, v.77, p.679-686, 2010.

HEITZMAN, R. J. The Absorption, Distribution and Excretion of Anabolic Agents. **Journal of Animal Science**. 57(1):233-238. 1983.

IMHOLT, C.; MALCOLM, I. A.; BACON, P. J.; GIBBINS, C. N.; SOULSBY, C.; MILES, M.; FRYER, R. J.. Does diurnal temperature variability affect growth in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar*? **Journal of Fish Biology**. 78(2): 436–448. 2011.

IMSLAND, A. K., L. M. SUNDE, A. FOLKVORD & S. O. Stefansson. The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile turbot. **Journal of Fish Biology** 49: 926–940. 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf>. Data de acesso: 08 de dezembro de 2018.

JEZIERSKA, B.; BARTNICKA, B. The effect of pH on embryonic development of carp (*Cyprinus carpio* L.) **Aquaculture**, New York, 129(1-4):133-134, 1995.

KAWAMURA, T.; OTSUKA S. On acceleration of the ovulation of goldfish *Carassius auratus* to a high temperature. **Jap. Journal of Ichthyology**, 1, 157-165. 1950.

KIM, F. J. P. Efeitos do hormônio 17 α -metiltestosterona na masculinização do peixe *Bettasplendens*, Regan, 1909. Dissertação (Mestrado). Recife: UFRP, 2007, 48p.

KISSIL, G.W.; LUPATSCH, I.; ELIZUR, A.; ZOHAR, Y. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v.200, p.363-379, 2001.

KÜÇÜK, S. The effects of water type on growth, survival and condition of *Poecilia velifera*. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.760-763, 2010.

LANGHE, I. G.; DAXENBERGER, A.; SCHIFFER, B.; WITTERS, H.; IBARRETA, D.; MEYER, H. H. D. Sex Hormones Originating From Different Livestock Production Systems: Fate and Potential Disrupting Activity in the Environment. **Analytica Chimica Acta**. 473(1-2):27-37. 2002.

LE, Y.; SHENG-YUN, Y.; XIAO-MING, Z.; MIN, L., JING-YI, L.; KAI-CHANG, W. Effects of temperature on survival, development, growth, and feeding of larvae of Yellowtail clownfish *Amphiprion clarkii* (Pisces: Perciformes). **Acta Ecologica Sinica**, 31, 241-245. 2011.

LINKE, H. Labyrinth Fish: The Bubble-Nest Builders, Tetra Press, Melle. 1991.

LUBZENS, E.; YOUNG, G.; BOBE, J.; CERDÀ, J. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. **General and Comparative Endocrinology**. Article in Press. 2009.

LUCKENBACH, J. A.; GODWIN, J.; DANIELS, H. V.; BORSKI, R. J. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). **Aquaculture**, v.216, p.315-327, 2003.

- LUSK, J. L.; ROOSEN, J.; FOX, J. A. Demand for beef from cattle administered growth hormones or fed genetically modified corn: A comparison of consumers in France, Germany, the United Kingdom, and the United States. **American journal of agricultural economics**, v. 85, n. 1, p. 16-29, 2003.
- MACHADO, D. M. Farmácia de Manipulação nas Formulações relacionadas à Modulação Hormonal. 2018. 136p.
- MAITRA, S. K.; CHATTORAJ, A.; MUKHERJEE, S.; MONIRUZZAMAN, M. Melatonin: A potent candidate in the regulation of fish oocyte growth and maturation. **General and Comparative Endocrinology**. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.09.015. 2012.
- MEDEIROS, A. F. F. D. Desenvolvimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*: efeito da salinidade e da temperatura. 2013.
- MENIN, E. Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestório de seis Teleostei (Pisces) de água doce. Tese de Doutorado, Universidade de Sao Paulo, Brasil, p.557, 1988.
- MIURA, C.; MIURA, T.; YAMASHITA, M.; YAMAUCHI, K.; NAGAHAMA, Y. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in germ-somatic cell coculture from immature Japanese eel testis. *Dev., Growth & Differentiation*. 38, 257–262. 1996.
- MONVISES, A.; NUANGSAENG, B.; SRIWATTANAROTHAI, N.; PANIJAN, B. The Siamese Fighting Fish: well-known generally but little-known scientifically. **Scientia Asia**. v. 35, p. 8-16, 2009.
- NAGAHAMA, Y. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *The International Journal of Developmental Biology*. 38, 217– 229. 1994.
- NAGAHAMA, Y.; KAGAWA, H.; YOUNG, G. Cellular sources of sex steroids in teleost gonads. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic**. 39, 56– 64. 1982.
- NAUMOV, V. M. The ovogenesis and ecology of the sexual cycle of the murmansk herring *Clupea harengus harengus*. **Special scientific report Fish**. U.S., 327: 203-262. 1956.
- NELSON, J. S. Fishes of the world. 4th ed. Canada: John Wiley & Sons, Inc. 2006. 601p.
- NOCILLADO, J.; ELIZUR, A. Neuroendocrine regulation of puberty in fish. **Molecular Reproduction and Development**, v.75, p.355-361, 2008.
- OKAMOTO, M. H. Efeito da temperatura sobre a determinação do sexo e o crescimento de juvenis do linguado *Paralichthys Orbignyanus*. 2011.
- OLIVEIRA, R. D. Efeitos da temperatura nas respostas cardio-respiratórias e na respiração aérea acessória de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Erythrinidae) aclimatação a 15, 20, 25 e 30°C e submetidos a variações de O₂ ambiental. [Tese de Doutorado]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. 2003.
- Ostrowski, A. D.; Watanabe, W. O.; Montgomery, F. P.; Rezek, T. C.; Shafer, T. H.; Morris, J. A. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body

osmolality, and expression of Na⁺/K⁺ ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. **Aquaculture**. 314(1-4):193-201. 2011.

PARMENTIER, H.K., TIMMERMANS, L.P., EGBERTS, E. Monoclonal antibodies against spermatozoa of the common carp (*Cyprinus carpio* L.): I. A study germ cell antigens in adult males and females. **Cell and Tissue Research**. 236, 99–105. 1984.

PARMENTIER, H. K.; TIMMERMANS, L. P. The differentiation of germ cells and gonads during development of carp (*Cyprinus carpio* L.): a study with anticarpsperm monoclonal antibodies. **Journal of embryology and experimental morphology**. 90, 13–32. 1985.

PEIXES BR. Anuário PeixeBR da piscicultura 2018. São Paulo. 2018.

PEIXE FAUNA. Disponível em: <<http://peixefauna.forumeiros.com/t5717p50-meu-betta>>. Data de acesso: 31 de março de 2019.

PHELPS, R.P.; CERESO, G. The effect of confinement in hapas on sex reversal and growth of *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Aquaculture**, New York, v. 1, n. 4, p. 73-81, 1992.

OSPINA-ALVAREZ, 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.

PRÖTNER, H. O. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. **Comparative Biochemistry and Physiology**. A 132, 739–761. 2002.

RATANATHAM, S.; PATINAWIN, S. Cytogenetic studies of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan). **Science Asia**, v. 5, p. 17-26, 1979.

REDDON, A. R.; HURD, P. L. Water pH during early development influences sex ratio and male morph in a West African cichlid fish, *Pelvicachromis pulcher*. **Zoology**, v. 116, n. 3, p. 139-143, 2013.

RICO, A. G. Metabolism of Endogenous and Exogenous Anabolic Agents in Cattle. **Journal of Animal Science**. 57(1): 226-232. 1983.

RÖOMER, U. E BEISENHERZ, W. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). **Journal of Fish Biology**. 48, 714– 725. 1996.

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

SAMPAIO, R. R. Efeito letal da amônia e do nitrito nas fases iniciais da vida do *Betta splendens*. Dissertação Produção Animal, UFMG. Belo Horizonte, MG. 2017.

SANTILLÁN, R. D. B. Reprodução do *Betta splendens*. Monografia. Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro - **Instituto de Florestas**. Curso de Engenharia Florestal. 2007.

SASSON, S.; NOTIDES, A. C. Estriol and estrone interaction with the estrogen receptor. I. Temperature-induced modulation of the cooperative binding of [3H] estriol and [3H] estrone to the estrogen receptor. **Journal of Biology Chemical** 258: 8113-8117. 1983a.

SASSON, S.; NOTIDES, A. C. Estriol and estrone interaction with the estrogen receptor. II. Estriol and estrone-induced inhibition of the cooperative binding of [3H] estradiol to the estrogen receptor. **Journal of Biology Chemical** 258: 8118-8122. 1983b.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Aquicultura no Brasil – Série de estudos mercadológicos. Disponível < [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)>. Acesso em: dezembro/2018.

SILVA, R. C. D. Ontogenia do trato digestório e desenvolvimento gonadal de *Betta splendens*: aspectos morfológicos. 2013.

SMITH, T. S. Primary sex reversal in female *Betta splendens* following treatments with temperature and trenbolone acetate. 2005, East Tennessee State University, 65p.

SCHMIDT-NIELSEN, K. Fisiologia animal. Editora Santos. 2002.

STRÜSSMANN, C. A.; NAKAMURA, M. Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. **Fish Physiology and Biochemistry**, 26(1), 13-29. 2002.

SOUSA, R. G. C.; DE CASTRO, A. L. Adequação do uso da hora-grau (hg) em horas contínuas para a reprodução de tambaqui na região do baixo amazonas. **Scientia Amazonia**, 3(1), 75-80. 2014.

SOUZA, K. C.; HOYOS, D. C. M.; RAMIREZ, M. A.; FIGUEIREDO, R. C.; OLIVEIRA, A. F.; COSTA, D. P.; RABELO, A. B.; XAVIER, R. M. P. Produção camponesa do peixe ornamental *betta splendens* na comunidade de Perobas. In: **Engenharia de Aquicultura: Temas e Pesquisas**. Florianópolis. 1. Ed. UFSC. 2018, p. 1-186.

SUNDARARAJ, B. I. E VASAL, S. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, 33: 959-973. 1976.

TABATA, Y. A. Atualização sobre métodos e procedimentos para obtenção de populações monossexo de peixes: Produção de Fêmeas. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, São Paulo. Disponível em:< <http://www.aquicultura.br/trutas/estagios/producaodefemeas.doc>>. Acessado em 12/02/2018.

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

TENA-SEMPERE M, FELIP A, GÓMEZ A, ZANUY S, CARRILLO M. Comparative insights of the kisspeptin/kisspeptin receptor system: lessons from non-mammalian vertebrates. **General and Comparative Endocrinology**, v.175, p.234-243, 2012.

TSADIK, G. G.; BART, A. N. Effects of feeding, stocking density and water-flow rate on fecundity, spawning frequency and egg quality of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, v.272, p.380-388, 2007.

USMANI, N.; JAFRI, A. K. Effect of fish size and temperature on the utilization of different protein sources in two catfish species. **Aquaculture Research**, v. 33, n. 12, p. 959-967. 2002.

VAN WINKOOP, A.; TIMMERMANS, L. P. M. Phenotypic changes in germ cells during gonadal development of the common carp *Cyprinus carpio* an immunohistochemical study with anti-carp spermatogonia monoclonal antibodies. **Histochemistry** 98, 289– 298. 1992.

WANG, L. H.; TSAI, C. L. Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **J. Exp. Zool.** 286, 534– 537. 2000.

WASIELESKY, W.; BIANCHINI, A.; MIRANDA, F. K. Tolerancia a la temperatura de juveniles de lenguado *Paralichthys orbignyanus*. **Frente Marítimo**, 17, 43-48. 1998.

WIBBELS, T.; CREWS, D. Steroid-induced sex determination at intermediate incubation temperatures in a turtle with TSD. **Gen Comp Endocrinol** 100: 53-60. 1995.

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

OBJETIVOS

Objetivo geral

Objetivou-se com este estudo avaliar a influência de diferentes temperaturas da água no desempenho reprodutivo, desempenho zootécnico durante os 30 primeiros dias de vida e na proporção de machos e fêmeas para a espécie *Betta splendens*.

Objetivos específicos

- Avaliar a influência de diferentes temperaturas da água sobre a sobrevivência, número de larvas por desova e crescimento de larvas da espécie *B. splendens*, às 48 horas e aos 7, 16 e 30 dias após eclosão.

- Avaliar a influência da temperatura da água na diferenciação sexual da espécie *B. splendens*.

Influência da temperatura da água no desempenho reprodutivo e diferenciação sexual do peixe *Betta splendens*

Influence of water temperature on reproductive performance and sexual differentiation of fish *Betta splendens*

Resumo

A espécie de peixe ornamental *B. splendens* (beta) possui importância econômica para a aquicultura ornamental brasileira. Em animais ectotérmicos, como os peixes, a temperatura da água tem marcada influência sobre os processos bioquímicos e fisiológicos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da temperatura da água sobre o desempenho reprodutivo, sobrevivência, desempenho zootécnico nos primeiros 30 dias após eclosão e na diferenciação sexual do peixe *B. splendens*. O delineamento experimental foi de 5 tratamentos (temperaturas da água 26, 28, 30, 32 e 34°C) e quatro repetições. Após o período de adaptação dos reprodutores, de 20 dias, às temperaturas experimental, os animais foram colocados para acasalar. Após a desova e eclosão dos ovos, as larvas foram mantidas nos aquários onde ocorreram as desovas até o momento em que se realizou a identificação sexual dos animais. Na temperatura de 34°C não foram obtidos nenhum sucesso de desova para a espécie. Não houve diferença significativa na obtenção do número de larvas e no ganho de peso com o aumento da temperatura. A sobrevivência apresentou comportamento quadrático com o aumento da temperatura, assim como o comprimento total, onde houve destaque de desempenho nas temperaturas de 28 e 30°C. Já em relação à quantidade de machos, este foi maior nas temperaturas da água mais altas. A temperatura da água influencia os parâmetros reprodutivos, de desempenho zootécnico e na diferenciação sexual para a espécie *B. splendens*.

Palavras-chave: peixe ornamental, larvicultura, reprodução, fator ambiental

Abstract

The ornamental species *B. splendens* (beta) is economically important for Brazilian ornamental aquaculture. In ectothermic animals, such as fish, the temperature of water has a marked influence on biochemical and physiological processes. The objective of the present study was to evaluate the influence of water temperature on reproductive performance, survival, zootechnical performance in the first 30 days after hatching and sexual differentiation of *B. splendens* fish. The experimental design was 5 treatments (water temperatures 26, 28, 30, 32 and 34°C) and four replications. After the breeding period of 20 days, at experimental temperatures, the animals were placed to mate. After spawning and hatching of the eggs, the larvae were kept in the aquariums where the spawning took place until the sexual identification of the animals. At the temperature of 34°C no spawn success was obtained for the species. There was no significant difference in the number of larvae and weight gain with the increase in temperature. Survival presented a quadratic behavior with the increase in temperature, as well as the total length, where performance was highlighted in the temperatures of 28 and 30°C. In relation to the number of males, this was higher in the higher water temperatures. The temperature of the water influences the reproductive, zootechnical performance and sexual differentiation parameters for *B. splendens* species.

Keywords: ornamental fish, larviculture, reproduction, environmental factor.

1. INTRODUÇÃO

A espécie de peixe ornamental *Betta splendens* possui importância econômica para a aquicultura ornamental brasileira, sendo conhecido no país com o nome popular de beta. Originário de países tropicais asiáticos, este animal é cultivado no Brasil, especialmente em locais quentes, como a Zona da Mata Mineira, região que se destaca na produção de peixes ornamentais. Nessa região o beta é um dos peixes mais importantes na produção, sendo uma das principais espécies produzidas (Cardoso, 2009). Bem adaptado ao cultivo, a temperatura ótima da água para o beta é de 27°C (Smith, 2005), embora este peixe sobreviva em temperaturas da água entre 23°C a 34°C (Monvises et al., 2009).

De fácil manejo, o beta possui desova parcelada, cuidado parental, e o seu melhor desempenho reprodutivo ocorre entre o verão e a primavera (Giannecchini, 2012). A diferenciação sexual deste peixe acontece com aproximadamente 2 meses de idade (Faria et al., 2006; Monvises et al., 2009). Na produção comercial, o macho alcança maior valor de mercado, devido aos padrões morfofisiológicos mais atraentes ao consumidor, como cores diversificadas, comportamento ativo, maior tamanho corporal e de nadadeiras (Tabata, 2000; Smith, 2005; Faria et al., 2006; Monvises et al. 2009).

Em pisciculturas comerciais é necessária a manutenção adequada de diversos parâmetros da água para a obtenção do sucesso produtivo e, sendo os peixes animais ectotérmicos, a temperatura da água tem marcada influência sobre os processos bioquímicos e fisiológicos destes organismos (Baroiller et al., 1999). Várias funções metabólicas, como sobrevivência, alimentação, crescimento e reprodução são influenciadas pela alteração de temperatura da água (Evans, 2006). Logo, aspectos funcionais relacionados ao desempenho zootécnico e reprodutivo destes animais podem sofrer influência direta deste parâmetro ambiental (Ham et al., 2003; Imholt et al., 2011; Ostrowski et al., 2011).

Nas fases mais jovens de desenvolvimento, a temperatura de água mais alta, dentro do limite de conforto térmico para espécies tropicais, contribui para o desenvolvimento mais rápido desses animais (Imsland et al., 1996). Ou seja, o aumento da temperatura da água, até um limite ótimo para o animal, resulta num aumento direto na taxa de crescimento (Liu e Walford, 1966).

No entanto, temperaturas de água além do limite ótimo para as espécies, podem ter um efeito contrário (Liu e Walford, 1966), levando a maior gasto energético para o organismo (Árnason et al., 2009) o que pode vir a contribuir negativamente para o crescimento, peso e sobrevivência destes animais, devido ao estresse à que eles são expostos (Garvey et al., 2004), prejudicando, assim o seu desempenho zootécnico. Além disso, a temperatura da água é apontada como influenciador do ciclo de vida, sobrevivência e reprodução dos peixes (Liu & Walford, 1966 e Liu et al., 1975).

Além da ação na fisiologia desses animais, a temperatura tem influência sobre seus aspectos reprodutivos, tanto no que diz respeito à cascata hormonal, responsável pelo processo de reprodução, quanto no que se refere à diferenciação sexual. Manipular a diferenciação sexual na produção psícológica é interessante, pois manter os dois sexos nos sistemas de cultivo, sem que estes peixes sejam direcionados para a reprodução, pode elevar os gastos energéticos oriundos do período reprodutivo. Outra vantagem da preponderância de um dos sexos na aquicultura é que, geralmente um deles pode alcançar maior valor comercial, como é o caso do beta, em que o macho alcança maior valor de venda.

A manipulação da proporção de um dos sexos por meio da ação da temperatura ocorre devido ao efeito que este parâmetro exerce sobre o organismo dos peixes, podendo alterar, em algumas espécies, a ação da determinação genética. Bull (1983) e Valenzuela et al. (2003) descreveram que a determinação sexual em peixes gonocoristas pode ocorrer via genética ou pela alteração da temperatura da água.

Conover e Kynard (1981) afirmaram que a temperatura da água afeta a diferenciação sexual em 59 espécies de peixes já estudadas, pertencentes a 13 famílias diferentes, dentre as quais se destacam alguns peixes ornamentais do gênero *Apistogramma spp.*, com 33 famílias, e outros como *Danio rerio*, *Carassius auratus* e *C. carassius*, *Poeciliopsis lucida* e *Poecilia sphenops*.

Os principais mecanismos apontados como sendo influenciados pela temperatura da água na diferenciação sexual em peixes são: as enzimas cyp19a, que atuam na biossíntese do citocromo P450 aromatase, comumente conhecida como aromatase e o cortisol (Baroiller e D´Cotta, 2001; Devin e Nagahamay, 2002; Kijima et al., 2006; Dias, 2009).

A aromatase é a enzima catalizadora da conversão dos hormônios esteroides sexuais. Ela age tanto na conversão da testosterona em estradiol, quanto na androstenediona em estrona e também atua como controladora da taxa de biossíntese de estrogênios (Baroiller e D’Cotta, 2001; Devin e Nagahamay, 2002; Kijima et al., 2006; Dias, 2009).

A temperatura da água age tanto diretamente sobre a aromatase, impedindo sua síntese e, portanto, favorecendo a proporção de indivíduos machos na população (Baroiller e D’Cotta, 2001; Devin e Nagahamay, 2002), quanto indiretamente, alterando os receptores de hormônios estrogênicos nas células, impedindo, assim a ligação desses hormônios (Sasson e Notides, 1983a, b; Crews, 1996).

O cortisol é outro fator que atua na diferenciação sexual em peixes. Este hormônio é liberado devido ao estresse sofrido pelos animais expostos a altas temperaturas da água, fora da faixa de conforto térmico para a espécie. Hattori et al. (2009) e Hayashi et al. (2010) relataram que o aumento de níveis plasmáticos de cortisol inibe o efeito das enzimas *cyp19a*, impedindo a produção da aromatase (Yamaguchi et al., 2010). Outra explicação da ação do cortisol na diferenciação sexual é que a sua elevação leva a expressão da enzima *11 β -hsd*. Essa atua na síntese da 11-cetotestosterona, principal andrógeno masculinizante em peixes (Fernandino et al., 2012).

Uma vez que mesmo dentre as famílias de peixes teleósteos, cada espécie tem sua particularidade de desenvolvimento frente às variações ambientais, é importante que cada espécie seja avaliada em particular. Como a temperatura da água é um fator ambiental que altera o metabolismo desses animais, é de suma importância sua avaliação sobre o desempenho zootécnico, reprodutivo e diferenciação sexual, para observar seus possíveis efeitos (Fangue et al., 2006).

Como a temperatura da água interfere no desenvolvimento dos peilotérmicos e, sendo o beta um peixe de destaque no comércio, é importante avaliar a ação da temperatura da água sobre seu desempenho zootécnico. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes temperaturas da água sobre a quantidade de larvas por desova, sobrevivência, peso, comprimento e ganho de comprimento durante os primeiros 30 dias após eclosão, desempenho reprodutivo e na diferenciação sexual da espécie *B. splendens*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animais (CEUA) de acordo com o protocolo de nº 81/2016.

2.1 Instalações

O experimento foi conduzido no Setor de Peixes Ornamentais do Laboratório de Aquacultura da Universidade Federal de Minas Gerais (LAQUA-UFGM), no período de julho de 2016 a outubro de 2017.

2.2 Aquisição dos reprodutores de *Betta splendens* e quarentena

Um total de 70 casais de *Betta splendens*, foram adquiridos de um criadouro na cidade de Patrocínio do Muriaé-MG. Os animais tinham aproximadamente três meses de vida, não tendo sido acasalados anteriormente.

Após chegarem ao laboratório, os animais ficaram em quarentena por 20 dias, para avaliação de possíveis doenças. Na quarentena, 20 fêmeas foram colocadas juntas em aquários com 16 litros (L) de água de poço artesiano, enquanto 20 machos foram acondicionados individualmente em recipientes plásticos de dois litros perfurados, dentro de aquários de 16 L de água, ambos em temperatura ambiente e alimentados até a saciedade aparente com ração comercial contendo 40% proteína e 3.000Kcal/kg energia digestível, duas vezes ao dia. A água dos aquários foi trocada uma vez por semana para a manutenção da qualidade da mesma. Para isto, retirou-se 30% do volume de cada aquário e adicionou-se água limpa aos mesmos, sendo colocado 5% de água a cada 20 minutos para evitar alteração brusca da água em que estavam os animais. Para a reposição de água utilizou-se água de poço artesiano, previamente estabilizada, onde esta foi deixada em uma caixa de 100 L por um período de 24 horas para equilibrar o Ph.

2.3 Delineamento e adaptação às temperaturas experimentais

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, temperaturas da água de 26, 28, 30, 32 e 34°C e quatro repetições. Após o período de quarentena, os animais foram adaptados às temperaturas experimentais por um período de 20 dias. Para isso, 20 aquários com capacidade útil de 35L de água, foram preenchidos com 16 L de água de poço artesiano, acrescido de aquecedor com termostato ajustados nas temperaturas da água de 26, 28, 30, 32 e 34°C e pH de 7,3. Em cada aquário foi colocado um macho de beta. Para cada temperatura experimental foram

colocadas juntas, 7 fêmeas de beta, em aquários separados aos dos machos, com 16 L de água de poço artesiano, nas mesmas condições de água que os machos.

Durante este período os animais foram alimentados inicialmente até a saciedade aparente com ração comercial contendo 40% proteína e 3.000Kcal/kg energia digestível, artêmias (*Artemia salina*) e daphnias (*Daphnia pulex*), sendo fornecidas 40 unidades de cada um desses alimentos vivo por reprodutor, duas vezes ao dia. O fotoperíodo foi ajustado com temporizador para 12 horas.

A temperatura da água foi mensurada, por meio de termômetro de mercúrio, duas vezes ao dia, às 9:00 e às 16:00 e quando necessário, os termostatos foram ajustados. A concentração de amônia e o pH, foram medidos uma vez por semana, utilizando kits colorimétricos (Alkon®). Foi realizada também, troca parcial de água de 30%, por meio de sifonamento, uma vez por semana em todos os aquários.

Para a reposição da água, a mesma foi retirada de poço artesiano, sendo colocada em caixas individuais de 100 L, separada para cada temperatura. A água era previamente aquecida por um período de 24 horas e para constatar a temperatura, mediu-se essa antes da reposição de cada tratamento. A reposição da água foi feita aos poucos, para não alterar de forma brusca o ambiente experimental. Na reposição, a cada 20 minutos adicionou-se água limpa nos aquários, previamente aquecida em cada temperatura experimental até completar os 30% retirados no sifonamento.

2.4 Manejo reprodutivo

Após o período de adaptação dos reprodutores às temperaturas experimentais, os betas foram colocados para acasalar.

Na temperatura da água de 34°C não ocorreu nenhum sucesso na reprodução. Realizou-se oito tentativas de desova, sendo que apenas dois casais desovaram. No entanto, os animais comeram os ovos logo em seguida. Por este motivo, esta temperatura de água foi retirada do experimento.

Para cada temperatura experimental as fêmeas foram aleatoriamente distribuídas nos aquários com os machos da respectiva temperatura da água (sendo uma fêmea em cada aquário). A fêmea ficou separada do macho dentro de um recipiente plástico de 2L perfurado para permitir a troca da água com a do aquário. Após a transferência, aguardou-se um período de 24h para estimular o macho na construção do ninho de

bolhas, sinalizando que este estava apto à reprodução. Os machos que não produziam ninhos nesse período foram trocados.

Após as 24h, as fêmeas foram soltas nos aquários dos machos para que ocorresse a corte e desova. Se a desova ocorresse, a fêmea era retirada e colocada em um recipiente plástico de dois litros, previamente identificado com a data da desova e o número do aquário do macho onde esta se encontrava. Caso a desova não ocorresse dentro de 36 horas, a fêmea era então substituída por outra até a obtenção da desova.

Os casais não foram alimentados durante o período do acasalamento. Cada desova foi monitorada diariamente por meio de observações visuais para verificar a eclosão e natação das larvas. Quando as larvas começavam a nadar horizontalmente, o macho era retirado do aquário e colocado separadamente em um recipiente plástico de dois litros, previamente identificado com a data da desova e o número do aquário.

2.5 Manejo da prole e biometria

Aproximadamente 4 dias após a eclosão dos ovos o macho foi retirado do aquário e adicionada aeração suplementar até o 30º dia após a eclosão dos ovos. Durante os três primeiros dias após a retirada do macho, as larvas foram alimentadas com náuplios de artêmias (*A. salina*) recém eclodidos, três vezes ao dia, sendo ofertados 40 náuplios por larva e após o quarto dia, foi adicionada a esta dieta ração comercial triturada, com 40% de proteína *ad libitum*. Esta alimentação foi fornecida até o final do experimento.

Durante todo o período experimental, o fotoperíodo foi mantido artificialmente em 12h, a temperatura da água mensurada, por meio de um termômetro de mercúrio, duas vezes ao dia, às 9:00 e às 16:00 e o pH e a concentração de amônia medidos uma vez por semana, em todas as unidades experimentais utilizando kits comerciais colorimétricos (Alkon®).

Os aquários foram limpos semanalmente com lã acrílica perlon e sifonados 50% do volume da água, para manutenção da qualidade da mesma. A água para a reposição dos aquários foi previamente aquecida, para a manutenção da temperatura da água e era mantida em uma caixa com 100 L de capacidade, separada para cada tratamento. A água era repostada gradativamente, com a adição de 20% do total a ser repostado de água a cada 20 minutos para não causar choque nos peixes.

Devido à dificuldade na contagem dos ovos, por causa do cuidado parental do macho, realizou-se a primeira contagem das larvas depois da retirada do macho dos aquários, com quatro dias após a eclosão dos ovos.

Realizou-se biometria, sendo avaliados cinco animais de cada repetição e também nova contagem dos peixes aos 7, 16 e 30 dias após a eclosão. O comprimento total foi medido em centímetros utilizando-se paquímetro digital. O comprimento total inicial (CTI) foi medido aos 7 dias e o comprimento total final (CTF) foi medido aos 30 dias após eclosão.

$$\text{Ganho de comprimento} = \text{CTF} - \text{CTI}$$

Para a realização da pesagem, os peixes foram colocados em uma peneira, esta foi seca com papel toalha para a retirada do excesso de água, em seguida as larvas foram colocadas em um recipiente com água e pesados em conjunto, utilizando-se balança digital de precisão $\pm 0,001$ (g). Avaliou-se o peso inicial (P7) aos 7 dias após eclosão, o peso aos 16 dias (P16) avaliados aos 16 dias após eclosão e o peso final (P30) com 30 dias após eclosão. Para a pesagem utilizou-se de cinco animais, pesados em conjunto, em todos os períodos testados.

As larvas foram mantidas nos aquários onde ocorreram as desovas, até o momento em que realizou-se a identificação sexual dos animais.

2.6 Sobrevivência e porcentagem de sobrevivência

Para a análise da sobrevivência, os animais foram contados aos 4, 7, 16, 30 dias após eclosão e após a diferenciação sexual. Para a obtenção da porcentagem de sobrevivência para cada período estabelecido, foi utilizada a seguinte equação abaixo:

$$\text{Sobrevivência (\%)} = (\text{número final de peixes} / \text{número inicial}) * 100$$

2.7 Sexagem dos animais

Os animais foram considerados diferenciados em machos ou fêmeas quando estes apresentaram as características sexuais da espécie: no macho a presença de nadadeiras caudais longas e corpo alongado e delgado, e nas fêmeas, a presença de um ponto branco entre as nadadeiras ventrais, conforme descrito por Ratanatham e Patinawin, (1979); Faria et al. (2006) e Monvises et al. (2009). Os peixes diferenciados sexualmente foram retirados dos aquários e contabilizados.

2.6 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, temperaturas da água de 26, 28, 30, 32 e 34°C e quatro repetições.

Para avaliar o efeito da temperatura da água sobre as variáveis de interesse foi realizada análise de variância e teste de F. As médias dos grupos foram testadas por meio do teste de Tukey. Modelos de regressão polinomial de primeira e segunda ordem foram ajustados para obtenção da temperatura da água que otimizou a variável resposta. Os modelos foram comparados com base na significância do coeficiente de regressão adicionado e por meio do coeficiente de determinação ajustado. Para as variáveis que não cumpriram as premissas da análise de variância, avaliadas por meio do teste de Shapiro-Wilk e Bartlett, a comparação dos grupos foi feita com base no teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância considerado em todas as análises foi de 5%. O software R (R Core Team, 2019) foi utilizado para as avaliações estatísticas. O programa utilizado foi R Core Team (2017) através da plataforma R Studio (2017).

3. RESULTADOS

Não foi obtido sucesso reprodutivo na temperatura da água de 34°C. Foram feitas 8 tentativas de reprodução em 34°C, sem sucesso nas desovas.

Manteve-se a qualidade de água dentro do esperado para o cultivo da espécie de acordo com Sampaio (2017), com valores de pH entre 7,32 e 7,43 e valores de amônia entre 0,3 e 1,16 mg/L (Tabela 1).

Tabela 1. Médias e desvio padrão dos parâmetros de qualidade de água: Temperatura, Potencial hidrogeniônico (pH), Amônia (AM) nos diferentes tratamentos.

Tratamentos (°C)	pH ^{ns}	AM ^{ns}
26	7,36±0,06	0,6±0,37
28	7,32±0,06	0,77±0,37
30	7,4±0,06	1,16±0,37
32	7,43±0,06	0,3±0,37
CV (%)	0,58	0,80

^{ns} – Não significativo pelo teste de Regressão Linear a 5% de probabilidade

A quantidade de larvas obtidas por desova às 48 horas e o percentual de sobrevivência do período de 4 a 7 não apresentaram diferença significativa pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. A porcentagem de sobrevivência do período de 30 dias até a sexagem dos animais não apresentou diferença significativa pelo teste de regressão linear e quadrática. A porcentagem de sobrevivência do período de 4 dias até

à sexagem dos peixes apresentou comportamento quadrático ($p < 0,05$) com o aumento da temperatura (Tabela 2).

Tabela 2. Medianas, médias e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros: mediana (máximos e mínimos) da quantidade inicial – 4 dias após eclosão (QI) e mediana (máximos e mínimos) da porcentagem de sobrevivência do período de 4 a 7 dias após eclosão (PS4/7), médias da porcentagem de sobrevivência do período de 7 a 16 dias após eclosão (PS7/16), médias da porcentagem de sobrevivência do período de 16 a 30 dias após eclosão (PS16/30) E médias da porcentagem de sobrevivência do período de 30 dias após eclosão até a sexagem dos animais (PS30/SEX) para *B. splendens* mantidos nas temperaturas experimentais.

Tratamentos (°C)	QI	PS4/7	PS7/16	PS16/30	PS30/SEX
26	379,50 (548,00-236,00)±127,81	0,84 (0,84-0,86)±0,01	0,73±0,08	0,83±0,13	0,41±0,08
28	263,00(525,00 -117,00)± 192,56	0,88 (0,61-0,92)±0,14	0,86±0,10	0,96±0,03	0,51±0,13
30	141,50(432,00 -31,00)± 172,22	0,68 (0,90-0,49) ±0,20	0,91±0,07	0,89±0,12	0,67±0,19
32	131,00(350,00-62,00)± 132,29	0,66 (0,76-0,21) ±0,25	0,67±0,21	0,82±0,16	0,63±0,19
CV (%)	-	-	15,90	13,70	52,72

A porcentagem média de sobrevivência do período de 4 dias após eclosão até a sexagem dos animais apresentou comportamento quadrático, com a melhor taxa de sobrevivência das larvas à 28°C ($p < 0,05$) (Figura 3).

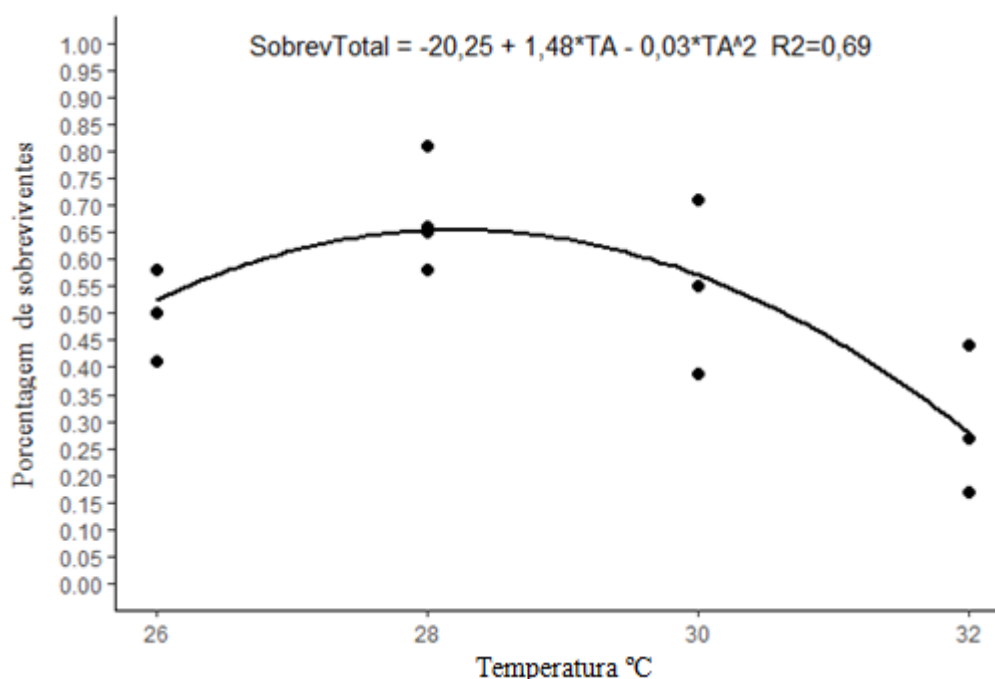


Figura 3. Porcentagem da sobrevivência das larvas de *Betta splendens* do período de 4 dias após eclosão até a sexagem dos animais nas temperaturas estudadas.

É possível verificar na tabela 3 que as diferentes temperaturas da água testadas, não influenciaram ($p > 0,05$) no peso dos animais durante os períodos avaliados de 7, 16 e 30 dias após eclosão.

Tabela 3. Médias, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros: Peso inicial (g) (P7), Peso aos 16 dias (g) (P16) e Peso final (g) (PF) no período de 30 dias de avaliação nas temperaturas da água testadas para *B. splendens*.

Tratamentos (°C)	P7	P16	P30
26	0,42±0,05	0,51±0,03	0,66±0,15
28	0,33±0,14	0,51±0,12	0,45±0,12
30	0,40±0,13	0,49±0,07	0,63±0,22
32	0,36±0,22	0,46±0,13	0,46±0,08
CV (%)	38,88	19,30	27,37

O comprimento total inicial (CTI) aos 7 dias após eclosão, com melhor taxa de crescimento em 29°C (Figura 4) e aos 16 dias após eclosão (Figura 5) apresentou comportamento quadrático com o aumento da temperatura da água, sendo que em 26 e 32°C o comprimento foi menor e em 28 e 30°C apresentaram o melhor crescimento ($p < 0,05$), com melhor taxa de crescimento em 28,7°C. Já em relação ao comprimento total final (CTF) (aos 30 dias após eclosão), este apresentou comportamento quadrático conforme o aumento da temperatura da água ($p < 0,05$), com melhor taxa de crescimento em 32°C (Figura 6). O ganho de comprimento não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$).

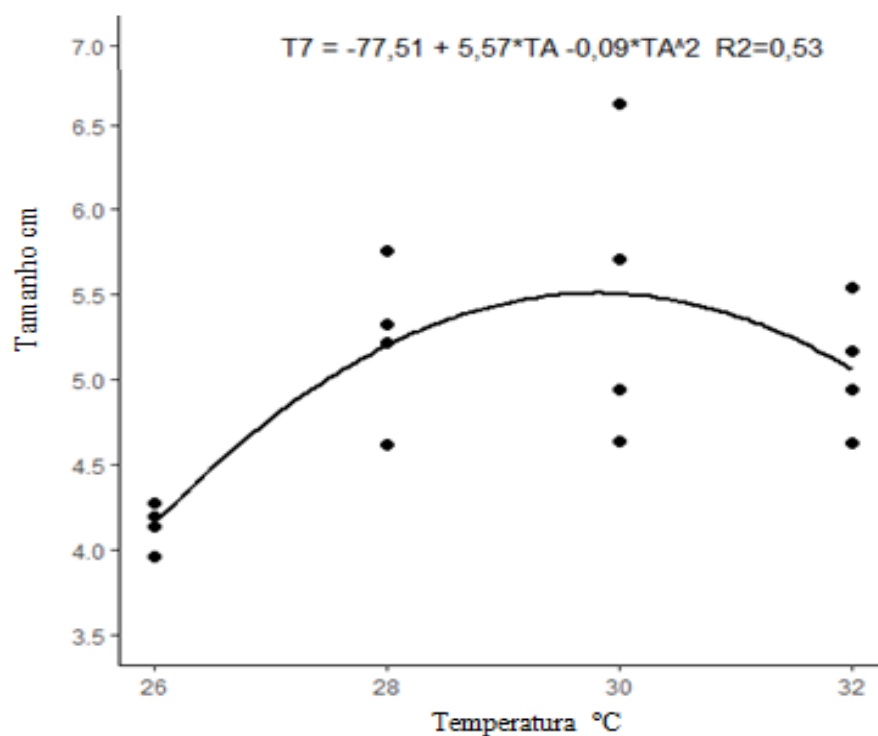


Figura 4- Comprimento total inicial dos animais aos 7 dias após eclosão nas temperaturas testadas.

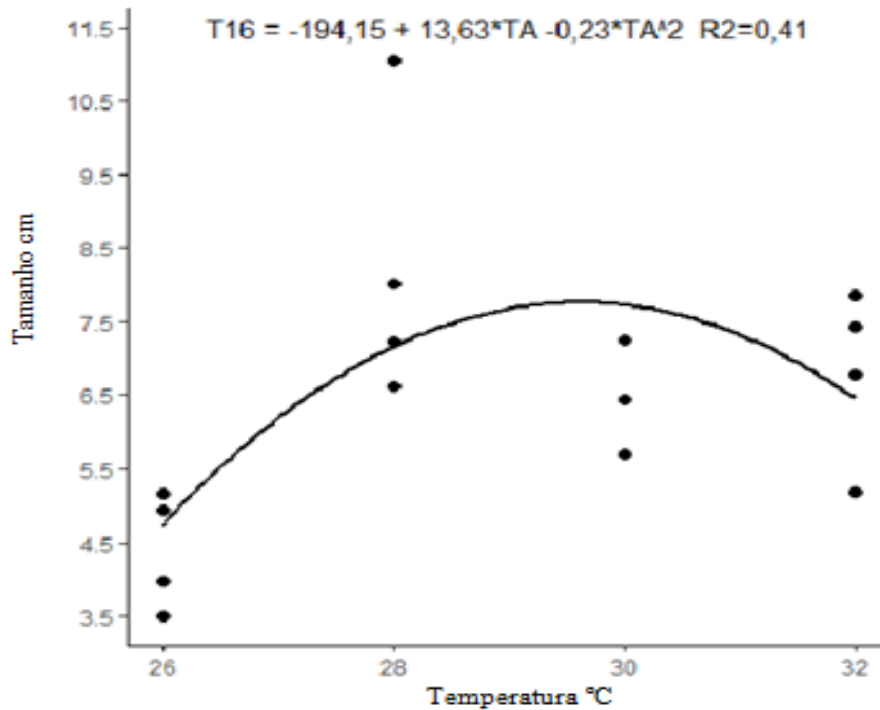


Figura 5- Comprimento total dos animais aos 16 dias após eclosão nas temperaturas testadas.

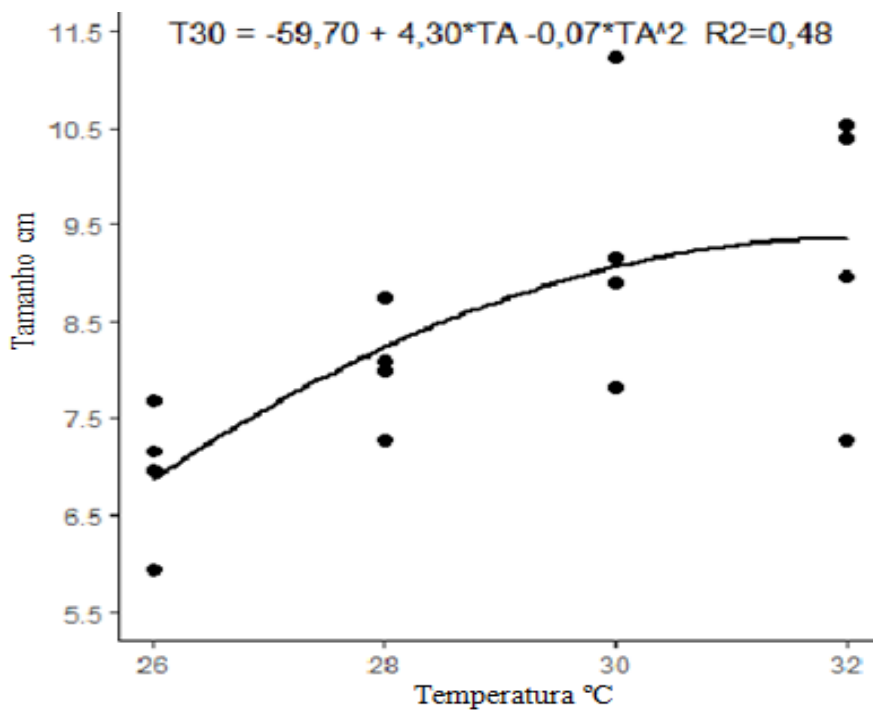


Figura 6- Comprimento total final dos animais aos 30 dias após eclosão nas temperaturas testadas.

A quantidade de machos obtidos nos tratamentos teve o valor mínimo em 27,45°C, ponto crítico, e atingiu a maior quantidade de machos em 32°C com aumento de forma quadrática conforme aumentou-se a temperatura (Figura 7).

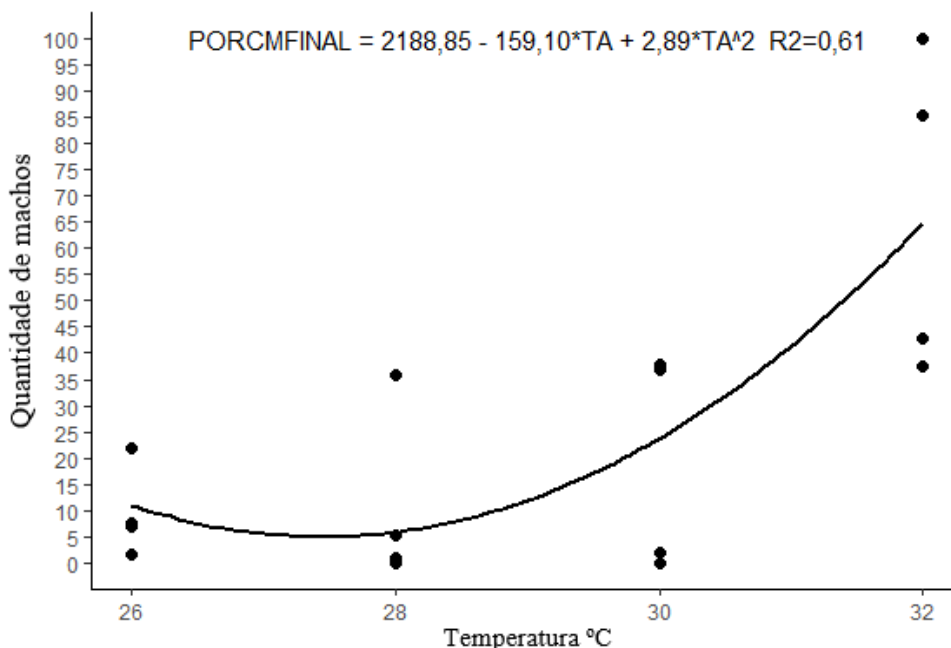


Figura 7- Quantidade de machos obtidos nas temperaturas testadas.

4. DISCUSSÃO

Os parâmetros de qualidade de água, amônia e pH, observados durante o experimento apresentaram em conformidade com a literatura para a criação de peixes tropicais (Huet, 1983) e não diferiram dos valores recomendados para cultivo do beta: pH entre 6,8 e 7,2 de acordo com Monvises et al. (2009) e Parisi (2017) e amônia total até 3,69 mg/L de acordo com Sampaio (2017).

Neste a porcentagem de sobrevivência não diferiu estatisticamente nas temperaturas testadas. No entanto Imsland et al. (1996) afirmaram que além de cada espécie ter uma faixa de temperatura da água ótima para seu desenvolvimento, esta altera-se ao longo da vida do peixe.

Segundo Boyd e Tucker (1998) mesmo para animais que sobrevivem em uma faixa ampla de temperatura de água em seu habitat natural, o melhor intervalo de temperatura da água para a sobrevivência de peixes tropicais está entre 20 e 30°C. Küçük (2010) ao trabalhar com a Molinésia Velífera (*Poecilia velifera*) em duas temperaturas de água, 25 e 30°C observou sobrevivência significativamente maior no tratamento de 25°C. Santos (2015) ao trabalhar com Molinésia em três tratamentos com água de tratamento de efluentes e duas temperaturas da água, 27 e 28°C, observou melhor sobrevivência, comprimento e comprimento final na temperatura de 27°C.

Varsamos et al. (2005) e Neyrão (2017) ao trabalharem em diferentes temperaturas da água para juvenis de Badejo (*Dicentrarchus labrax*) observaram que a elevação desse parâmetro, fora do intervalo de conforto do animal, aumentou o nível de cortisol no organismo do animal, afetou a osmolaridade e o peso corporal. Além disso, os autores observaram queda nas concentrações de IgM no organismo dos peixes, o que contribuiu para deixar os animais mais suscetíveis a infecções resultando em maior mortalidade no plantel avaliado. Por outro lado, Borges (2004) ao testar duas temperaturas da água, 27 e 35°C na diferenciação sexual de tilápias, da linhagem chitralada, obteve sobrevivência significativamente maior em 35°C na fase larval e na fase de diferenciação sexual os animais.

Neste estudo o comprimento total inicial, comprimento total aos 16 dias de vida e comprimento total final apresentaram aumento significativo, de acordo com o aumento da temperatura da água. Segundo Liu e Walford (1966) a taxa de crescimento aumenta de acordo com o aumento da temperatura da água, até o limite de tolerância para a espécie, o que foi constatado nos resultados obtidos. Segundo Árnason *et al.* (2009) o aumento da temperatura da água pode ter efeito positivo sobre o metabolismo dos peixes, proporcionando maior eficiência da transformação da energia dos alimentos em energia metabolizável. O maior comprimento obtido nas temperaturas mais elevadas pode ter ocorrido por este efeito da temperatura sobre a transformação da energia.

Ao trabalharem com a influência de temperaturas da água em 25, 27 e 30°C, no crescimento de juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Souza, et al. (2013) observaram que em 30°C, os juvenis obtiveram crescimento significativo maior e no tratamento de 25°C obteve-se maior índice de mortalidade dos animais, o que foi atribuído a baixa taxa de alimentação e redução da imunidade. Neste estudo realizado com os betas a maior mortalidade foi encontrada na temperatura mais alta. O aumento da temperatura pode ter causado estresse nos animais, o que pode ter ocasionado mortalidade dos mesmos.

Ao analisarem o crescimento de larvas do Peixe Anual (*A. wolterstorffi*) Fonseca et al. (2013) obteve comprimento inicial significativo maior na temperatura da água de 16°C, no entanto à medida que as larvas cresceram, o crescimento tendeu ao aumento nas temperaturas intermediárias, 20 e 24°C, sendo prejudicado nas temperaturas extremas, 16 e 28°C.

Okamoto (2011) ao avaliar o crescimento diário em juvenis do Linguado (*Paralichthys lethostigma*) em 17, 20, 23 e 26°C encontrou valores mais altos de crescimento e peso em animais expostos a 23°C, dos peixes que foram submetidos a 17°C. O autor também não encontrou diferença significativa no peso nos peixes nas temperaturas da água de 23 e 28°C. Resultado semelhante ao encontrado neste estudo.

Medeiros (2013) ao trabalhar com juvenis do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* em duas temperaturas da água 26 e 30°C obteve uma taxa crescimento significativamente maior nos animais submetidos a 30°C, porém o autor também não observou diferença significativa no peso e peso nas diferentes temperaturas.

A quantidade de machos obtidos neste estudo foi influenciada pelas maiores temperaturas testadas. Este dado é importante, uma vez que o macho da espécie *B. splendens* possui maior valor comercial em relação a fêmea. Deste modo é possível trabalhar a manipulação da temperatura para a obtenção de maior proporção de machos na produção de beta. Ao expor larvas do beta, desde o nascimento até a diferenciação sexual, em duas temperaturas de água, 25,5 e 27,7°C, Lucas (1968) não encontrou diferenças significativas na obtenção de machos. Uma possível explicação para este resultado é que o autor utilizou pequeno intervalo de temperaturas, o qual não foi suficiente para alterar a quantidade de machos na prole.

Bull (1983) e Valenzuela (2003) descreveram que em espécies com diferenciação sexual sensível a temperatura da água, as diferenças genéticas entre os sexos não são consistentes. Para esses autores a ação da temperatura da água, ao longo da janela de sensibilidade do desenvolvimento ontogenético, define a razão sexual, por meio da determinação do sexo fenotípico.

Há vários relatos na literatura de espécies e famílias de peixes, tanto marinhas, quanto as de água doce, que apresentam este padrão de diferenciação sexual: algumas espécies de *Oreochromis* (Baras et al., 2001); *Apistogramma sp.* (Röomer e Beisenherz, 1996); *Cyprinídeos* (Rothbard, 1999); *Callichthyidae* (Sanchez, 1996); *Hoplosternum littorale* (Baroiller et al.,1999); *Veraspermoseri* (Goto et al., 1999) e *M. menidia* (Conover et al., 1992).

A ação de hormônios andrógenos, assim como os inibidores de aromatase, comumente utilizados para a masculinização de peixes, agem reprimindo a expressão de

genes como *foxl-2* e *cyp19a1*, atuantes na diferenciação dos ovários. Concomitantemente, há a inibição da síntese dos genes *gdf-9*, *fshb*, *lhb*, responsáveis pelo início da oogênese, bloqueando o desenvolvimento meiótico ovocitário. Paralela à ocorrência desses eventos há a expressão dos genes *sox-9* e *dmrt-1*, das células de Sertoli, célula somática testicular, o que ocasiona formação dessa gônada (Almeida, 2013).

Bezault et al. (2007) em estudos realizados com fêmeas genéticas de tilápias expostas a condições extremas, com temperaturas da água próximas a 40°C, observou a masculinização destes animais. Röomer e Beisen-herz (1996) encontraram forte masculinização induzida por tratamentos com 29°C em *Apistogramma sp.* Este fenômeno ocorre devido à ação da aromatase ser favorecida em temperaturas de água mais baixas, dentro do conforto térmico para a espécie, privilegiando assim a atuação de estrógenos no organismo (Devlin e Nagahama, 2002).

Guraya (1994) e Nakamura et al. (1998) descreveram outra hipótese que também favorece o desenvolvimento de fêmeas em temperaturas da água mais baixas, que está relacionado ao desenvolvimento inicial do ovário pela ação da aromatase. Nesse mesmo sentido, Baroiller et al. (1999) e Baroiller (2000) descreveu que a diferenciação dos ovários na maioria das espécies termossensíveis é induzida por temperaturas de água mais baixas. Nos salmonídeos, por exemplo, o desenvolvimento ovariano ocorre antes do testicular, que acontece algumas semanas ou meses após o início do desenvolvimento das gônadas em fêmeas, o que expõe estes animais a um período maior à ação de hormônios feminilizantes. Neste caso, a maior proporção de machos com o aumento da temperatura da água pode ter ocorrido devido à redução da ação da aromatase.

Kitano et al. (1999) reportaram que em temperaturas de água mais elevadas, ocorre redução nos níveis de RNAm da enzima P450 aromatase, o que, conseqüentemente leva a baixos níveis de estradiol, resultando no processo de masculinização. Estes autores relataram a ocorrência deste fenômeno em juvenis de linguado (*Paralichthys olivaceus*).

Outra hipótese para a obtenção do maior número de machos nas temperaturas da água mais altas pode ser a sensibilidade das fêmeas ao aumento deste parâmetro, o que pode ter ocasionado a mortalidade das fêmeas durante os testes. O que pode ser

verificado, uma vez que a taxa de sobrevivência dos peixes foi muito baixa na temperatura de 32°C. Em estudos com a espécie *A. wolterstorffi*, Fonseca et. al. (2013) afirmou que há indicativos de que o sexo atua na escolha dessa espécie por condições térmicas mais favoráveis à sobrevivência e sucesso reprodutivo. Podrabsky et al. (2008) observaram a mesma tendência para o peixe ornamental Killifish (*Austrofundulus limnaeus*). Ao exporem reprodutores dessa espécie em pistas com intervalo de temperatura de 21 a 37°C os autores descreveram que esses peixes conseguiram selecionar com exatidão a temperatura favorável à reprodução, tendo diferença de escolha entre fêmeas e machos. De acordo com os mesmos autores as fêmeas têm preferência ao intervalo de temperatura de 23 a 26°C e os machos optaram pela variação de 25 a 28°C.

Navarro-Martín et al. (2011) ao estudarem o aumento da temperatura da água, variação de 19,9 a 26,5°C, durante o desenvolvimento sexual do robalo (*Dicentrarchu slabrax*) apontaram este aumento como fator responsável pela metilação do gene *cyp19a*, sintetizados da aromatase, reduzindo assim a conversão dos andrógenos em estrogênios no cérebro. Desse modo as temperaturas de água altas produziram o efeito de masculinização para a espécie estudada. Semelhante aos efeitos observados neste estudo.

Na temperatura de 34°C não foi obtido sucesso reprodutivo dos betas. Em um estudo com a diferenciação sexual do peixe ornamental *Austrolebias wolterstorffi* nas temperaturas da água 16, 20, 24 e 28°C, Fonseca et. al., (2013) relatou que a temperatura da água de 24°C apresentou maior proporção de machos. Entretanto o autor não constatou obtenção de desova na temperatura da água mais alta, 28°C. Resultado semelhante ao obtido neste estudo com a temperatura de 34°C.

Embora o beta consiga sobreviver na temperatura da água de 34°C (Monvises et al., 2009), a mesma impossibilitou a reprodução deste animal. O insucesso na obtenção de desovas pode ter ocorrido devido ao estresse térmico sofrido pelos reprodutores nessa temperatura. O estresse causado por altas temperaturas pode alterar o metabolismo dos peixes, tanto reduzindo seu consumo alimentar (Evans, 2006), quanto impedindo a reprodução (Webb et al., 1999; Fonseca et. al. (2013).

Neste sentido, Webb et al. (1999) em experimento avaliando o aumento de temperatura da água, na faixa de 10 a 18°C para o peixe esturjão (*Acipenser*

transmontanus) observaram que na temperatura de água de 18°C ocorreu inibição de desenvolvimento ovocitário e atresia folicular além da diminuição das concentrações plasmáticas de andrógenos e estradiol.

Van et al. (2005) ao estudarem o desenvolvimento de embriões de linguado, da espécie *Acipenser medirostris* relataram que temperaturas de água entre 23 a 26 °C afetaram a clivagem e a gastrulação, levando a morte antes da eclosão dos ovos. Estes autores descreveram que nas temperaturas da água entre 17,5 a 22 °C, o desenvolvimento dos embriões apresentou anormalidades e o comprimento total médio dos embriões eclodidos teve um decréscimo linear com o aumento da temperatura.

Embora a obtenção de machos tenha sido crescente com o aumento das temperaturas testadas, a sobrevivência foi menor nessas, o que dificulta a obtenção de uma produção satisfatória no ambiente de cultivo. Por este motivo são necessários mais estudos para avaliar o melhor tempo de exposição às temperaturas mais altas, para a obtenção de maior número de machos juntamente com uma maior quantidade de animais sobreviventes para o beta.

A sobrevivência e desempenho dos animais foi prejudicado principalmente nas temperaturas de 32 e 34°C, o que pode ser um problema na obtenção de uma produção satisfatória no ambiente de cultivo, já que na maioria das produções comerciais o beta é produzido em estufas, o que pode fazer com que a temperatura da água alcance temperaturas médias elevadas com facilidade, principalmente nos períodos mais quentes do ano. Por este motivo são necessários mais estudos para verificar o melhor tempo de exposição do beta a temperaturas mais altas para a obtenção de uma maior quantidade de animais machos sobreviventes e um melhor desempenho da espécie durante a larvicultura.

5. CONCLUSÕES

Ao testar diferentes temperaturas na reprodução e larvicultura do *B. splendens* podemos concluir que:

A temperatura da água mais baixa demonstrou ter influência positiva sobre a obtenção de larva e a sobrevivência para a espécie *B. splendens*, sendo que a sobrevivência foi linearmente decrescente com o aumento das temperaturas testadas.

O comprimento dos peixes apresentou comportamento, comportamento quadrático com o aumento da temperatura.

Há influência significativa da temperatura da água na diferenciação sexual, o que demonstrou a presença da característica de termo sensibilidade no *B. splendens*. Fato que abre a possibilidade da utilização da manipulação da temperatura da água como alternativa ao uso de hormônios sexuais na masculinização do beta

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 174-180, 2013.
- ARENZON, A.; Lemos, C. A.; Bohrer, M. B. C. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Brazilian Journal of Biology** 62(4B): 743-747.2002.
- AZEVEDO, J. K. G. D. Densidade de estocagem de lambari do rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*) em sistema de recirculação de água. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Ciências Agrárias, Universidade Federal de da Paraíba, Areia. 2018. 31 p.
- BARAS, E.; Jacobs, B.; Mélard, C. Effect of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX-XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. 192:187-199. 2001.
- BAROILLER, J. F.; Guigen, Y.; Fostier, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. **Cellular and Molecular Life Sciences** 55: 910–931. 1999.
- BAROILLER, J. F.; D’cotta, H. Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, A, S10. 2000.
- BAROILLER, J. F.; D’cotta, H. Environment and sex determination in farmed fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**. C 130: 399-409. 2001.
- BEZAULT, E.; CLOTA, F.; DERIVAZ, M.; Chevassus, B.; Baroiller, J. F. Sex determination and temperature induced sex differentiation in three natural populations of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) adapted to extreme temperature conditions. **Aquaculture** 272S1: S3–S16. 2007.
- BULL, J. J. Evolution of sex determining mechanisms. Menlo Park: Benjamin/Cummings. 316 p. 1983.
- CONOVER, D. O.; KYNARD, B. E. Environmental sex determination – Interaction of temperature and genotype in a fish. **Science** 213: 577–579. 1981.
- CONOVER, D.O.; VAN VOORHEES, D. A.; EHTISHAM, A. Sex ratio selection and the evolution of environmental sex determination in laboratory populations of *Menidia menidia*. **Evolution** 46, 1722– 1730. 1992.

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

DEVIN, 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.

EVANS, D.H.; J. B. CLAIBORNE. The Physiology of Fishes. Editors 3rd ed. CRC Press: Boca Raton. 2006. 601p.

FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D. V., TEIXEIRA, E. A., RIBEIRO, L. P., SOUZA, A. B., CARVALHO, D. C., SALIBA, E. O. S. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan 1910). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 134-149, 2006.

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**, 153(12), 6003-6011. 2012.

FONSECA, A. P. D., VOLCAN, M. V., SAMPAIO, L. A., ROMANO, L. A., & ROBALDO, R. B. Growth of Critically Endangered annual fish *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) at different temperatures. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 4, p. 837-844, 2013.

GIANNECCHINI, L. G.; MASSAGO, H.; FERNANDES, J. B. K. Effects of photoperiod on reproduction of Siamese fighting fish *Betta splendens*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 821-826, 2012.

GOTO, R.; MORI, T.; KAWAMATA, K.; MATSUBARA, T.; MIZUNO, S.; ADACHI, S.; YAMAUCHI, K. Effects of temperature on gonadal sex determination in barfin flounder *Veras permoseri*. **Fisheries Science**. 65, 884– 887. 1999.

GURAYA, S. S. Gonadal development and production of gametes in fish. Proc. **Indian National Science Academy**, Part B 60, 15– 32. 1994.

HATTORI, R. S.; FERNANDINO, J. I.; KISHII, A.; KIMURA, H.; KINNO, T.; OURA, M.; SOMOZA, G.M.; YOKOTA, M.; STRUSSMAN, C. A.; WATANABE, S. Cortisol-induced masculinization: does thermal stress affect gonadal fate in pejerrey, a teleost fish with temperature-dependent sex determination? **Plos One**, v.4, p.e 6548, 2009.

HAYASHI, Y.; KOBIRA, H.; YAGAMUCHI, T.; SHIRAISHI, E.; YAZAWA, T.; HIRAI, T.; KAMEI, Y.; KITANO, T. High temperature causes masculinization of genetically female medaka by elevation of cortisol. **Molecular Reproduction Development**, v.77, p.679-686, 2010.

HUET, M. Tratado de piscicultura. Madrid: Mundi Prensa, 3 ed. p.615, 1983.

KIJIMA, I.; PHUNG, S.; HUR, G.; KWOK, S. L.; CHEN, S. Grape seed extract is an aromatase inhibitor and a suppressor of aromatase expression. **Cancer Research**, Califórnia, v. 66, n.11, p.5960-5967, 2006.

- KITANO, T.; TAKAMUNE, K.; KOBAYASHI, T.; NAGAHAMA, Y.; ABE, S. I. Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Journal Molecular Endocrinology** 23, 167–176. 1999.
- LUCAS, G. A. A study of variation in the Siamese Fighting Fish, *Betta splendens*, with emphasis on color mutants and the problem of sex determination. 1968. Retrospective Theses and Dissertations, Iowa State University, Dissertation, 201p.
- MONVISES, A.; NUANGSAENG, B.; SRIWATTANAROTHAI, N.; PANIJAN, B. The Siamese fighting fish: Well-known generally but little-known scientifically. **Science Asia**, v.35, p.8–16. 2009.
- NAKAMURA, M.; KOBAYASHI, T.; CHANG, X.-T.; NAGAHAMA, Y. Gonadal sex differentiation in teleost fish. **Journal Experimental Biology**. 281, 362–372. 1998.
- NAVARRO-MARTÍN, L.; VINAS, J.; RIBAS, L.; DÍAZ, N.; GUTIÉRREZ, 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 Genetics**. 7, e1002447. 2011.
- PARISI, S. Cuidando do peixe Betta. Disponível em: http://www.webanimal.com.br/peixe/index2.asp?menu=peixe_betta1.htm. Acesso 20/01/2017.
- PODRABSKY, J. E., CLELEN, D.; CRAWSHAW, L. I. 2008. Temperature preference and reproductive fitness of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus* exposed to constant and fluctuating temperatures. **Journal of Comparative Physiology**. 194:385–393.
- R CORE TEAM (2017). R: *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RATANATHAM, S.; PATINAWIN, S. Cytogenetic studies of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan). **Science Asia**, v. 5, p. 17-26, 1979.
- RÖOMER, U; BEISENHERZ, W. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). **Journal Fish Biology** 48: 714–725. 1996.
- ROTHBARD, S.; RUBINSHTEIN, I.; DAVID, L.; SHELTON, W. L. Ploidy manipulations aimed to produce androgenetic Japanese ornamental (koi) carp, *Cyprinus carpio* L. **Israeli Journal Aquaculture -Bamidgeh**. 51, 26– 39. 1999.
- SANCHEZ, S. F. A. S. Karyotypic studies and cytotaxonomic considerations on *Callichthys callichthys* (Pisces, Siluroidei) from Argentina. **Cytologia** 61, 247–252., 1996.
- SASSON, S.; NOTIDES, A. C. Estriol and estrone interaction with the estrogen receptor. II. Estriol and estrone-induced inhibition of the cooperative binding of [3H] estradiol to the estrogen receptor. **Journal Biology Chem** 258: 8118-8122. 1983b.

- SASSON, S.; NOTIDES, A. C. Estriolan destrone interaction with the estrogen receptor. I. Temperature-induced modulation of the cooperative binding of [3H] estriol and [3H] estrone to the estrogen receptor. **Journal Biology Chem** 258: 8113-8117. 1983a.
- SMITH, T. S. Primary sex reversal in female *Bettasplendens* following treatments with temperature and trenbolone acetate. 2005, East Tennessee State University, 65p.
- TABATA, Y. A. Atualização sobre métodos e procedimentos para obtenção de populações monossexo de peixes: Produção de Fêmeas. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, São Paulo. Disponível em: < <http://www.aquicultura.br/trutas/estagios/producaodefemeas.doc> > Acessado em, v. 15, 2000.
- VALENZUELA, N.; ADAMS, D. C.; JANZEN, F.J. Pattern does not equal process: Exactly when is sex environmentally determined? **American Naturalist** 161: 676–683. 2003.
- WEBB, M. A.; VAN EENENNAAM, J. P.; DOROSHOV, S. I.; & MOBERG, G. P. Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproductive performance of female white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. **Aquaculture**, 176(3-4), 315-329. 1999.
- YAMAGUCHI, T.; YOSHINAGA, N.; YAZAWA, T.; GEN, K.; KITANO, T. Cortisol is involved in temperature-dependent sex determination in the Japanese flounder. **Endocrinology**, v. 151, n. 8, p. 3900-3908, 2010.
- ZUANON, J. A. S.; ASSANO, M.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de tricogaster (*Trichogaster trichopterus*) submetido a diferentes níveis de arraçoamento e densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 1639-1645. 2004.